



# UNIVERSIDAD DE LA RIOJA

## TRABAJO FIN DE ESTUDIOS

Título

VINOS TINTOS DE LA VARIEDAD TEMPRANILLO  
ELABORADOS CON Y SIN ADICIÓN DE SULFITOS

Autor/es

ROBERTO RUIZ DE LA CUESTA IBÁÑEZ

Director/es

MARÍA FERNANDA RUIZ LARREA y ROCIO FERNÁNDEZ PÉREZ ,

Facultad

Facultad de Ciencia y Tecnología

Titulación

Grado en Enología

Departamento

AGRICULTURA Y ALIMENTACIÓN

Curso académico

2016-17



***VINOS TINTOS DE LA VARIEDAD TEMPRANILLO ELABORADOS CON Y SIN ADICIÓN DE SULFITOS***, de ROBERTO RUIZ DE LA CUESTA IBÁÑEZ (publicada por la Universidad de La Rioja) se difunde bajo una Licencia Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 3.0 Unported. Permisos que vayan más allá de lo cubierto por esta licencia pueden solicitarse a los titulares del copyright.

**TRABAJO FIN DE GRADO**

**VINOS TINTOS DE LA  
VARIEDAD TEMPRANILLO  
ELABORADOS CON Y SIN  
ADICIÓN DE SULFITOS**

**ROBERTO RUIZ DE LA CUESTA IBAÑEZ**

**GRADO EN ENOLOGÍA**

Tutoras: **FERNANDA RUIZ LARREA**

**ROCÍO FERNÁNDEZ PÉREZ**

**Facultad de Ciencia y Tecnología**



**UNIVERSIDAD  
DE LA RIOJA**

**AÑO ACADÉMICO 2016-2017**

## ÍNDICE

Índice de tablas

Índice de gráficas

Abreviaturas

Resumen

Abstract

<b>1. Introducción</b>	<b>3</b>
1.1 Vinos de la D.O.Ca Rioja	3
1.2 Variedades de <i>Vitis vinífera</i> de la D.O.Ca. Rioja	3
1.3 Crianza de vinos	4
1.4 El anhídrido sulfuroso y otros conservantes alimentarios	4
1.5 Límites legales del contenido de anhídrido sulfuroso	5
1.6 Alimentos y bebidas elaborados con adición de sulfitos	6
<b>2. Objetivos</b>	<b>7</b>
<b>3. Materiales y metodología</b>	<b>8</b>
3.1 Elaboración de los vinos tintos	
Material de partida	8
Datos meteorológicos	8
Fermentación alcohólica	9
Desarrollo de la fermentación maloláctica	11
3.2. Análisis sensorial de los vinos	12
3.3. Análisis microbiológicos de los vinos elaborados	12
<b>4. Resultados y Discusión</b>	<b>15</b>
4.1 Análisis enológicos de los mostos	15
4.2 Meteorología	15
4.3 Desarrollo de la fermentación alcohólica	17
4.4 Desarrollo de la fermentación maloláctica	19

4.5 Resultado análisis sensorial de los vinos-----	27
4.6 Análisis microbiológicos-----	29
<b>5. Conclusiones-----</b>	<b>35</b>
<b>6. Referencias-----</b>	<b>36</b>
<b>7. Anexos-----</b>	<b>37</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

**Tabla 1:** Datos de los análisis iniciales del mosto de uva previo al encubado.

**Tabla 2.** Parámetros iniciales del mosto encubado en los 4 depósitos inoxidables.

**Tabla 3.** Humedad acumulada veranos 2010,2015 y 2016.

**Tabla 4:** Parámetros finales del vino obtenido en los 4 depósitos inoxidables.

**Tabla 5:** Parámetros iniciales del vino encubado en las barricas al inicio de la FML.

**Tabla 6:** Parámetros del vino al final de la FML y duración de la misma.

**Tabla 7:** Valores promedio y desviaciones estándar de los datos correspondientes al inicio de la FML.

**Tabla 8.** Valores promedio y desviaciones estándar de los datos correspondientes al final de la FML.

**Tabla 9.** Análisis sensorial: fase visual de los vinos con y sin sulfuroso.

**Tabla 10.** Análisis sensorial: fase olfativa de los vinos con y sin sulfuroso.

**Tabla 11.** Análisis sensorial fase gustativa de los vinos con y sin sulfuroso.

## ÍNDICE DE GRÁFICAS

**Gráfico 1.** Humedad del aire en la zona de Casalarreina (Desde 25/08/2016 – 28/10/2016).

**Gráfica 2.** Temperatura aire máxima, mínima y media.

**Gráfica 3.** Evolución de la FOH en los cuatro depósitos estudiados.

**Gráfica 4.** Evolución del ácido málico en las barricas con y sin sulfuroso.

**Gráfica 5.** Evolución del pH del vino durante la FML en las barricas con y sin sulfuroso.

**Gráfica 6.** Evolución acidez volátil durante la FML en barricas con y sin sulfuroso.

**Gráfica 7.** Duración de la FML.

**Gráfica 8.** Índice de color de los vinos de las barricas con y sin sulfuroso.

**Gráfica 9.** Concentración de antocianos de los vinos de las barricas con y sin sulfuroso.

**Gráfica 10.** Tonalidad de los vinos.

**Gráfica 11.** Niveles de SO<sub>2</sub> libre al finalizar la FOH y la FML.

**Gráfica 12.** Población de levaduras en los vinos al final de la FOH.

**Gráfica 13.** Población de levaduras al inicio de la FML.

**Gráfica 14.** Población de levaduras en plena FML.

**Gráfica 15.** Recuento de levaduras durante el periodo de crianza.

**Gráfica 16.** Recuento de levaduras durante el periodo de crianza.

**Gráfica 17.** Población de bacterias lácticas al inicio de la FML.

**Gráfica 18.** Población de bacterias lácticas durante la FML.

**Gráfica 19.** Población de bacterias lácticas al final de la FML.

## **ABREVIATURAS**

<b>A.R.</b>	Azúcares reductores
<b>A.V.</b>	Acidez volátil
<b>A.T.</b>	Acidez total
<b>D.O.Ca.</b>	Denominación de Origen Calificada
<b>et al.</b>	y colaboradores
<b>FAN</b>	Nitrógeno fácilmente asimilable
<b>FML</b>	Fermentación maloláctica.
<b>FOH</b>	Fermentación alcohólica.
<b>IC</b>	Índice de color.



## RESUMEN

En este trabajo se han elaborado vinos tintos de uvas de la variedad Tempranillo recogidas en la vendimia 2016 y procedentes de los viñedos propios de Bodegas Roda S.A., de la D.O.Ca. Rioja. Los objetivos de este TFG fueron elaborar vinos tintos por el método tradicional con adición de sulfuroso, y sin adición de sulfuroso, monitorizar la evolución de los vinos, y especialmente su población microbiana a partir del momento del descube, durante la fermentación maloláctica y el periodo inicial de crianza en bodega, con el fin de elaborar y obtener unos vinos de calidad.

Se realizaron análisis físico-químicos a lo largo de todo el proceso de elaboración y análisis microbiológicos mediante recuento de levaduras y bacterias lácticas viables. El recuento de levaduras se llevó a cabo mediante el método de tinción con eritrosina, conteo en cámara de Neubauer y microscopía óptica, y el recuento de bacterias viables se realizó mediante tinción fluorescente diferencial con el kit Live/Dead BacLight™ y microscopía de fluorescencia. Asimismo, se realizó el análisis sensorial de los vinos elaborados.

Los resultados de este trabajo han mostrado que los vinos elaborados sin adición alguna de sulfuroso, durante la fermentación alcohólica y la maloláctica tenían unos niveles de sulfuroso que alcanzaron los 10 mg/L, el cual era generado por el propio metabolismo de las levaduras endógenas de la uva y el vino. Los análisis físico-químicos han puesto de manifiesto una cierta mayor variabilidad en los parámetros medidos en los vinos elaborados sin adición de sulfuroso y un esperado ligero aumento de la tonalidad por la conocida actividad antioxidante del sulfuroso. Los análisis microbiológicos no mostraron ninguna diferencia notable entre las poblaciones microbianas de los vinos elaborados sin y con adición de sulfuroso. El análisis sensorial final de los vinos puso de manifiesto sutiles diferencias en la fase visual y olfativa, y que ambos tipos de vino presentaban las características deseadas de calidad.

**Palabras clave:** sulfuroso, levaduras, bacterias lácticas, recuentos microbiológicos, microscopía de fluorescencia.

## ABSTRACT

In this project wines were elaborated from tempranillo grapes harvested in 2016 and from vineyards belonging to Bodegas Roda S.A., which falls under the appellation of origin Rioja. The aims of this End-of-Degree Project were to make wines using traditional methods both with the addition of sulphur dioxide and without it, monitoring the progress of the wines, in particular the microbial population from the moment of devatting, during malolactic fermentation, and in the initial period of barrel ageing. The ultimate goal of course being to make premium quality wines.

Physical and chemical analyses were performed at every step of the winemaking process, as well as the microbiological analysis of viable yeast and lactic bacteria cells. Yeast counts were carried out by the erythrosine staining method and counting in a Newbauer chamber with an optical microscope. The viable bacteria counting was performed by differential fluorescence dyeing using the Live/Dead BacLight kit and fluorescence microscopy. Finally, sensorial analysis of the wines was carried out.

The results of this study prove that wines made without adding any type of sulphur dioxide during alcoholic and malolactic fermentation had levels of up to 10mg/L of sulphur dioxide, which was generated by the metabolism of the endogenous yeasts of wines and grapes. Physical-chemical analyses revealed that there was a wider variety in the parameters measured in those wines elaborated without the addition of any sulphur dioxide, and slightly increased tonality resulting from the well-known antioxidising activity of sulphur dioxide. Microbiological analysis showed no notable differences in microbial populations between wines made with or without sulphur dioxide. The final sensorial analysis of the wines revealed a subtle difference in the visual and olfactory phases, and that both types of wine presented the desired quality characteristics.

**Key words:** sulphur dioxide, yeasts, lactic bacteria, microbiological count, fluorescence microscope.

## 1. INTRODUCCIÓN

### **Vinos de la D.O.Ca Rioja** (Bravo, 1996)

El vino de Rioja se produce en tierras del Valle del Ebro y sus afluentes (Tirón, Oja, Najerilla, Leza) entre las conchas de Haro aguas arriba y los llanos de Alfaro. La zona ocupa territorios de la comunidad autónoma de la Rioja (80% de su tierra), comunidad Navarra (5%) y País Vasco, Álava (15%).

Existen grandes diferencias de suelo, exposición al sol y de influencias marítimas del cantábrico. La Rioja tecnológicamente se divide en tres partes: La Rioja alavesa, productora del 25% del vino de Rioja, que comprende los terrenos situados a la izquierda del Ebro. La segunda parte es la Rioja alta que produce un 43% de los vinos riojanos y que están situados en el margen derecho del Ebro y por último la Rioja baja que produce un 32% del vino y que está situado en el resto del margen derecho del Ebro .

En total la D.O.Ca comprende unas 48.000 hectáreas que producen 230 millones de uva al año de los cuales se obtiene 160 millones de litros de vino.

En cuanto a su historia, el vino riojano calificado de hoy, es el resultado del continuado esfuerzo y evolución que empezó en el siglo pasado al aparecer las plagas de oidio, mildiú y filoxera en nuestra vecina Francia. Francia entonces tuvo que buscar terrenos para producir vinos de calidad y que estuvieran lo suficientemente cerca como para que el transporte de aquella época fuera posible. La Rioja aprovechó la oportunidad y se trajeron tecnologías, instrumental y personal preparado que dieron como resultado un amplio abanico de vinos de la más alta calidad.

### **Variedades de *Vitis vinifera* de la D.O.Ca. Rioja** (Bravo, 1996)

Uno de los factores que determinan la diversidad de estos vinos riojanos de calidad es la variedad que se cultiva y se usa para elaboración. A continuación, las variedades y el porcentaje total de producción de variedades de uva usadas para vinificación en la comunidad:

**Tintas:** la producción de uva tinta se divide en las siguientes variedades (se indica entre paréntesis el porcentaje de su producción): tempranillo (59%), garnacha (20%) que es muy adecuada para vinos rosados, graciano y mazuelo. La base del vino tinto perteneciente a la D.O.Ca Rioja es la variedad tempranillo que es la mayoritaria y destaca por su buen envejecimiento.

**Blancas:** las variedades típicas son malvasía, viura (14%) y garnacha blanca que son los que dan lugar a los vinos blancos riojanos.

## **Crianza de vinos** (Bravo, 1996)

Dado que el proceso de crianza de vinos es característico de Rioja y su elaboración es cara, el consejo regulador de la denominación de origen Rioja controla escrupulosamente los vinos de cada añada y los tiempos de crianza que deben establecerse.

Según la capacidad de envejecer el vino, se pueden encontrar para cada clase de vino los siguientes niveles de crianza:

-**Sin crianza (Joven)**: representa el 59% del vino producido en total, el vino no ha sufrido ningún tipo de crianza ni envejecimiento. En la contraetiqueta no existe indicativo alguno a este respecto.

-**Crianza**: representa el 30% total del vino producido, tiene que tener como mínimo dos años de permanencia en bodega. De los cuales al menos uno debe ser en bodega (medio año para los blancos) En la contraetiqueta lleva la leyenda “vinos de crianza”, es de fondo rojo y lleva impreso el año de la cosecha.

- **Reserva**: representa el 9% total del vino producido. Ha de estar como mínimo 3 años en la bodega (dos años para rosados y blancos), de los que al menos uno debe ser en bodega de madera de roble (medio para blancos y rosados). La contraetiqueta es análoga a la anterior, pero con la leyenda “Reserva”.

-**Gran reserva**: representa el 2% total del vino producido. Ha de estar como mínimo 5 años en la bodega (4 años para blancos y rosados), de los que al menos 2 han de ser en bodega. La contraetiqueta lleva la leyenda “Gran reserva”.

Otro factor que determina calidad es la añada que varía de un año a otro de manera natural (puede ser normal, buena, muy buena o excepcional). Por ello se controla la añada y es obligatorio indicarla en la contraetiqueta para vinos de crianza, reserva y gran reserva.

## **El anhídrido sulfuroso y otros conservantes alimentarios** (Hidalgo, 2010)

El anhídrido sulfuroso ( $\text{SO}_2$ ) es un gas producido por la combustión del azufre en el aire, siendo conocido desde muy antiguo como desinfectante y siendo utilizado por los romanos en la higienización de las bodegas y los envases vinarios. Sus propiedades como conservante de los vinos fueron conocidas durante siglos, pero su empleo en las operaciones prefermentativas de las vendimias es más reciente.

Las múltiples propiedades que presenta este compuesto en la conservación de los vinos, hace que todavía en la actualidad no exista ninguna otra sustancia o tratamiento capaz de sustituirlo. Existen compuestos complementarios que se usan con la pretensión de disminuir el contenido de sulfuroso en vinos ( para evitar su precipitación y la aparición de sulfitos), estos productos son el ácido ascórbico, ácido

sórbico..etc. Pero ninguno de estos productos abarca el amplio espectro de propiedades que posee este gas.

Las propiedades positivas de este gas superan ampliamente las negativas. Algunas de sus propiedades más características son sus efectos antioxidantes, antiparedeamiento, sus propiedades antimicrobianas selectivas, especialmente frente a las bacterias lácticas, el retardo en el arranque de la fermentación alcohólica que posibilita el desfangado de mostos en mostos blancos y su continua acción degradante sobre los hollejos que permite una mayor maceración en vinos tintos.

Por otra parte, las propiedades negativas de este gas se presentan con las dosis elevadas en las vendimias o en los vinos, pudiendo aparecer olores defectuosos del propio gas sulfuroso, o por reducción del mismo hacia sulfhídricos o mercaptanos. En relación a la salud humana, en individuos hipersensibles a los sulfitos se pueden producir síntomas de intolerancia, tales como reacciones asmáticas o urticaria (Ban et al., 2014) por ingestión de los sulfitos presentes en el vino. Hasta hace poco no ha sido obligatorio indicar en el etiquetado de los vinos la mención de su contenido en azufre, como sucede en otras normativas como la norteamericana y de otros países donde si es obligatorio la mención “contiene sulfitos” en referencia a la presencia de esa sustancia. Sin embargo la aplicación de la directiva 2003/89/CE hace obligatorio indicar en el etiquetado la presencia de sustancias alérgicas, sobre todo el dióxido de azufre en concentraciones superiores a 10 mg/L así como otras sustancias en las que destacan para los vinos los productos derivados del huevo y del pescado como son los clarificantes.

#### **Límites legales del contenido de anhídrido sulfuroso** (Hidalgo, 2011a)

Según el reglamento de la Unión Europea número 606/2009 relativo a las categorías de productos vitícolas, las prácticas enológicas y las restricciones aplicables, los límites del contenido total de anhídrido sulfuroso en los vinos, no podrán exceder de las siguientes cantidades, pudiendo los estados miembros aplicar condiciones más restrictivas a las señaladas.

**-150 mg/L** para los vinos tintos.

**-200 mg/L** para los vinos blancos y rosados.

Si fueran vinos con azúcares residuales superiores a 5 gramos por litro, las cantidades variarían aumentando la cantidad a adicionar:

**-200 mg/L** para los vinos tintos.

**-250 mg/L** para los vinos blancos y rosados.

#### **Alimentos y bebidas elaborados con adición de sulfitos**

El panel de la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) ha sido el encargado de hacer una evaluación científica sobre la evaluación del dióxido de azufre en

distintos alimentos, así como la exposición de la población a este producto (<http://www.aecosan>).

Para medir la exposición alimentaria de una persona a un determinado aditivo (en nuestro caso dióxido de azufre), se requiere de la siguiente fórmula:

Exposición alimentaria= SUMATORIO de (concentración del aditivo alimentario en el alimento x consumo del alimento)/ peso corporal (kg))

Dentro de los distintos grupos de alimentos, EFSA ha señalado los siguientes por su contenido de sulfitos durante su procesado:

- FSC 04.2.1 Frutas y hortalizas deshidratadas: frutas y hortalizas en las que el contenido natural de agua ha sido reducido por debajo de la cantidad necesaria para su crecimiento.
- FSC 04.2.6 Productos procesados de patata: excepto patatas deshidratadas. Patatas congeladas para freír y especialidades a base de patatas congeladas o refrigeradas (como productos a base de puré de patata).
- FSC 08 Carne de pollo: resulta extraño la presencia de sulfitos en este tipo de carne, ya que no está autorizado su uso y según los datos que maneja EFSA se han encontrado niveles medios de 63,1 mg/kg.
- FCS 08.2. Preparados de carne: Burger meat (ingredientes de hamburguesas, albóndigas y carne picada comercializados principalmente envasados en bandejas, aunque también se comercializan en venta al por menor en carnicerías y que contienen sulfitos), longaniza fresca y butifarra fresca.
- FCS 14.1.2 Zumo de frutas y hortalizas: solo existe el uso autorizado de sulfitos en zumos de naranja, pomelo, manzana y piña destinados a la distribución a granel por establecimientos proveedores de comidas preparadas, en zumo de lima y limón y en zumo de uva, no fermentado para uso sacramental.
- FCS14.1.4 Bebidas aromatizadas: el uso de sulfitos en este tipo de bebidas está restringido a bebidas aromatizadas sin alcohol que contenga zumo de frutas a partir de concentrados y en bebidas aromatizadas sin alcohol que contengan al menos 235 g/L de jarabe de glucosa.

La conclusión de EFSA es que la exposición del consumidor a sulfitos está por encima de la ingesta diaria admisible en todos los grupos de la población. A la vista de estos resultados, la exposición es elevada y se requieren medidas de gestión del riesgo y de control.

Estas medidas de control para paliar riesgos de consumo de aditivos alimentarios pueden ser dos:

- Reducción de los niveles máximos autorizados.
- Supresión de usos autorizados.

## **2. OBJETIVOS**

Los objetivos planteados para este Trabajo Fin de Grado fueron los siguientes:

- Elaborar vinos tintos de la D.O.Ca. Rioja por el método tradicional con adición de sulfuroso, y sin adición de sulfuroso.
- Monitorizar la evolución de los vinos elaborados, y especialmente su población microbiana en diversos momentos de la elaboración: el descube, durante la fermentación maloláctica, y en el periodo inicial de crianza en bodega.
- Y el objetivo global de este trabajo fue de elaborar y obtener unos vinos tintos de calidad.

### **3. MATERIALES Y METODOLOGÍA**

#### **3.1. ELABORACIÓN DE LOS VINOS TINTOS**

##### **Material de partida:**

Para nuestro experimento utilizamos cerca de 1720 kilogramos de uva tinta variedad tempranillo, esta uva procede de una parcela llamada Perdigón situada a las afueras de Haro dirección Villalba. Esta parcela es conocida por su suelo seco y estéril y porque sus vides están colocadas en una ladera algo inclinada y que mejora por tanto la exposición de estas al sol. La vendimia de esta parcela se hace a principios de octubre siendo de las primeras debido a la correcta maduración del fruto.

La vendimia es manual y se recoge la uva en cajones de unos 30 kilogramos de capacidad. Una vez llenos se desplazan en camión a la bodega donde pasan por la sala de selección y se despallan eliminando así el raspón y metiendo el grano a los diferentes depósitos.

En cuanto al estado general de la uva utilizada en este experimento, se destacó su elevado grado ya que en muchas de las bodegas de la zona se había tenido problemas de grado poco elevado. Si nos referimos a su estado sanitario, las uvas destacaron por estar sanas y carecer de alteraciones ni enfermedades típicas de la vid (podredumbre). Los cajones recogidos se almacenaron en cámaras frigoríficas y no se les añadió nada de sulfuroso hasta el momento del encubado. La cantidad de metabisulfito añadido en los depósitos INOX 6 Y 7 fue de 35 ppm por depósito.

##### **Datos meteorológicos:**

Los datos de temperatura media del aire y del suelo, así como la humectación de viña recogidos en la estación meteorológica de Casalarreina. Los datos fueron recogidos en el periodo comprendido entre el 25/08/2016 y el 30/10/2016.

<http://www.larioja.org/agricultura/es/informacion-agroclimatica/consulta-personalizada>

##### **Fermentación alcohólica**

Se utilizaron 4 depósitos de acero inoxidable para este trabajo. En cada depósito de 500 litros de capacidad introdujimos aproximadamente la misma cantidad de uva de variedad tempranillo, unos 430 kilogramos de uva. La temperatura del depósito es regulada en todo momento por conducciones de agua fría por placas colocadas en el interior del depósito. A continuación voy a explicar cómo se realizaron las fermentaciones en los 4 depósitos, dos de ellos fueron usados para vinificar con sulfuroso y otros dos sin sulfuroso.





Depósitos INOX 6 e INOX 7

Controles con 35 ppm de MBS



Depósitos INOX 8 e INOX 9

Sin adición de sulfuroso

El día 7 de Octubre se llenaron los 4 depósitos de acero inoxidable, y al día siguiente, a partir del arranque de la fermentación, se hicieron controles diarios del mosto mediante el analizador automático TDI. Este analizador multiparamétrico realiza los análisis químicos con métodos enzimáticos y colorimétricos, y con él se determinaron parámetros importantes, tales como pH, acidez total, grado probable, FAN, antocianos, índice de color o málico. Sin embargo, el carbónico generado durante la fermentación impide el correcto análisis mediante el equipo TDI, ya que con la presencia de las burbujas el analizador da resultados que poco se ajustan a la situación real del proceso. Por eso durante los días que duró la fermentación se llevó a cabo un seguimiento doble de densidad y temperatura de cada depósito mañana y tarde. Cuando la densidad descendió lo suficiente se dio por finalizada la FOH y se analizó el vino con el TDI. Los resultados se muestran en la tabla 4 que recoge los parámetros: IC, antocianos, acidez total, pH, la acidez volátil, la concentración de alcohol y el extracto seco.

Una vez analizados los vinos, se descubaron y se trasegaron a las 6 barricas que iniciaron la fermentación maloláctica.

#### DEPÓSITOS CONTROLES INOX 6 e INOX 7

En estos depósitos introdujimos el día 7 de octubre de 2016 unos 430 kg de uva variedad tempranillo en cada uno de ellos, y los parámetros iniciales del mosto se indican en la tabla 2. Estos vinos fueron sulfitados con una cantidad de 35 ppm de MBS.

A partir del día 8, hicimos un seguimiento doble diario de mañana y tarde de densidad y temperatura para ver como iba evolucionando la fermentación alcohólica. Cabe señalar como observaciones destacables que el día 14 de octubre de 2016 añadimos

125 gr de FERMICOMPLEX. El FERMICOMPLEX es un producto que aporta el nitrógeno necesario a las levaduras para poder multiplicarse y así poder empezar bien la fermentación. El día 19 se volvió a añadir otros 125 gr de este producto para evitar que las levaduras se agotaran y evitar así una parada de la fermentación alcohólica.

El día 21 de octubre de 2016 se realizó el descube del depósito INOX 6 ya que se dio por concluida la fermentación alcohólica a un valor de densidad de 998. A la par del descube se añadían 80 gr de ACTIMAX que es otro nutriente compuesto de vitaminas y aminoácidos que servirá como sustento para el desarrollo de las bacterias lácticas que van a llevar a cabo la fermentación maloláctica. El día 22 de octubre de 2016 se realizó el descube del depósito INOX 7 y se añadieron 80 gramos de ACTIMAX. Del depósito INOX 6 se llevó el vino a dos barricas de roble francés de 225 litros que serán las barricas 1 y 2 de un total de las 6 barricas de este estudio, y del depósito INOX 7 se llenó la barrica número 3 de nuestro experimento.

#### DEPÓSITOS INOX 8 e INOX 9 SIN ADICIÓN DE SULFUROSO

En estos depósitos de acero inoxidable se alojaron unos 430 kilogramos de uva tinta de la variedad tempranillo en cada uno. En estos depósitos SIN adición de sulfuroso se cambió la manera de vinificar añadiendo alguna técnica diferente como la obtención de una atmósfera inerte de nitrógeno para evitar que el vino estuviera en contacto con el oxígeno y evitar la oxidación del vino. Estos depósitos se llenaron el día 7 de octubre de 2016 y se generó una atmósfera inerte de nitrógeno en el encabezado de ambos depósitos. Los parámetros iniciales del mosto se muestran en la tabla 2.

A partir del día 7 de octubre de 2016 en el depósito INOX 8, y a partir del día 8 en el depósito INOX 9 iniciamos un control doble (mañana y tarde) y diario de la temperatura y densidad para hacernos una idea de la evolución de la fermentación alcohólica.

El día 7 de octubre de 2016 se añadieron también 250 gramos de ACTIMAX GSH (en aproximadamente 2 litro de agua) este nutriente orgánico ayuda a las levaduras a realizar la fermentación alcohólica pero también es importante por su efecto antioxidante que ayuda a evitar la oxidación del vino al que no añadimos en ningún momento sulfuroso.

El día 8 se saturó la atmósfera en el espacio de cabeza de los depósitos con nitrógeno 0.19 mg/l. Con esta práctica enológica evitamos el contacto directo entre el oxígeno y la superficie del vino evitando así la oxidación de éste, de modo que el nitrógeno actúa como antioxidante, reemplazando el papel que normalmente hace el sulfuroso.

El día 14 de octubre de 2016 se añadieron 125 gramos de FERMICOMPLEX como en los casos anteriores. Para el depósito INOX 8 el día 19 se volvieron a añadir 125 gramos de este producto para evitar cualquier problema de parada en la fermentación alcohólica. El día 22 de octubre de 2016 se añadieron 80 gramos de ACTIMAX GSA. El día 26 de octubre de 2016 se realizó el descube y de este depósito se llenaron las barricas 4 y 5. En el caso del depósito INOX 9 hubo problemas para que arrancara la fermentación

debido a problemas con el equipo acondicionador térmico. Para que las levaduras una vez iniciada la fermentación alcohólica no se pararan, se volvió a añadir 125 gramos de FERMICOMPLEX el día 17 de octubre de 2016. El día 22 de octubre de 2016 se añadieron 80 gramos de ACTIMAX GSA y el día 26 de octubre se descubrió el vino y se llenó con él la última de las barricas del ensayo es decir, la barrica número 6.

### **Desarrollo de la fermentación maloláctica**



Barrica 1

Barrica 2

Barrica 3



Barrica 4

Barrica 5

Barrica 6

La fermentación maloláctica se realizó en las 6 barricas que se obtuvieron de los 4 depósitos de acero inoxidable. Las barricas se alojaron en una sala especial denominada sala "T" en la que se controlan las condiciones de humedad y temperatura. Algo característico en Roda es que evitan la adición de bacterias lácticas por lo que esta fermentación arrancó de manera espontánea.

Otro aspecto a tener en cuenta de esta fermentación fue que se realizó semanalmente análisis del vino a través del analizador TDI para controlar parámetros característicos como la evolución de la acidez o la disminución del ácido málico según avanza el proceso. Así como las 4 primeras barricas no tuvieron aparentes problemas para realizar la fermentación y acabaron en torno a un mes, las barricas 5 y especialmente la 6 tuvieron más problemas a la hora de realizarla ya que el nivel de málico descendía muy lentamente. Estas diferencias se cree que fueron por problemas térmicos que ocasionaron una menor multiplicación de la población de bacterias lácticas en el vino.

Tras este proceso el vino se destina a la crianza en el calado centenario de la bodega donde permanecerá hasta el curso que viene.

### **3.2. ANÁLISIS SENSORIAL DE LOS VINOS**

Para conocer el perfil sensorial de los vinos y si existía alguna diferencia entre los vinos elaborados sin adición de sulfuroso y los elaborados con sulfuroso que pudiera ser captada por los sentidos, se realizó una cata de los vinos con los alumnos de análisis sensorial de la Universidad de la Rioja.

La cata consistió en poner a cada alumno (13 alumnos en total) dos copas de vino. La primera copa correspondió al vino tempranillo tratado con sulfuroso y la segunda contenía vino sin tratamiento de sulfuroso.

Cada alumno debía rellenar una ficha de cata de cada una de las dos copas. Esta ficha de cata trataba de recoger información sobre las valoraciones subjetivas de los alumnos en cuanto a fase visual, fase olfativa y fase gustativa.

Para la fase visual debía rellenarse 3 valoraciones a cerca del color, la limpidez (desde limpio hasta turbio) y la intensidad (desde pálido hasta intenso).

Para la fase olfativa debía rellenarse 2 valoraciones de los aromas encontrados en la copa. Por un lado la intensidad y los aromas detectados a copa parada y por el otro los mismos descriptores a copa agitada.

Por último los alumnos debían probar el vino y valorar su fase gustativa a partir de 4 campos. El primero fue la intensidad en boca (desde ligero hasta fuerte). El segundo fue el cuerpo del vino (desde sencillo hasta complejo). El tercero la persistencia de este en boca y por último el retrogusto que dejaba el vino.

En total se rellenaron 13 fichas, cada una de ellas con vino tratado con sulfuroso y sin sulfuroso. La cata tuvo una duración de 30 minutos y se realizó en el aula de catas del edificio científico tecnológico de la Universidad de la Rioja.

### **3.3. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS DE LOS VINOS ELABORADOS**

En este apartado se realizó el análisis y recuento de levaduras y bacterias lácticas presentes en las muestras de vino tomadas en momentos distintos de la vinificación y con cronología diferente.

En primer lugar se realizó un recuento de levaduras. El recuento se llevó a cabo durante la FOH, al comienzo de la FML, en plena FML y por último durante el periodo posterior de crianza durante las primeras semanas posteriores a la FML.

Para realizar el recuento de levaduras se utilizó el método de recuento de la cámara de Neubauer y tinción con eritrosina (Bonneu et al., 1991). Esta cámara es un cuadrado compuesto de otros 16 cuadrados a su vez que se componen a su vez de otros 16 cuadrados de menor tamaño, haciendo esto un total de 256 cuadrados. La eritrosina

atraviesa las paredes y membranas dañadas de las levaduras, que quedan teñidas de color rosado, mientras que las levaduras vivas e intactas se visualizan transparentes.

Para preparar la muestra, se cogió de una serie de viales una pequeña muestra en suspensión, 250 µl de muestra que se mezclaron con otros 250 µl de un tinte denominado eritrosina.

El total que son 500 µl de mezcla de muestra con levaduras y colorante se introduce en un tubo falcon y se homogeniza bien con ayuda de un vortex.



Foto 2. Viales con muestras de vino y tubos falcon para recuentos.

De esta mezcla ya homogenizada se tomaron 10 µl que se colocan sobre la cámara de Neubauer. El último paso fue el de cubrir la mezcla con un porta y observar al microscopio con un aumento de x40.

Para realizar el recuento se seleccionaron 4 de los 16 cuadrados que componen la cámara, los correspondientes a la diagonal principal. De estos cuatro cuadrados que a su vez se subdividen en otros 16 cada uno, se realizó un recuento de las células vivas (incolores), células muertas (teñidas de violeta) y células totales (suma de ambas).

Para calcular las levaduras por mililitro se introduce la siguiente fórmula:

$$N^{\circ} \text{ levaduras/ml: } n^{\circ} (\text{levaduras por cuadradito}) \times 1000 \times \text{dilución} / 0.0125.$$

Debo destacar que en el caso de mis muestras no hizo falta diluir la muestra.

Tras finalizar los recuentos de levaduras, se prosiguió con el recuento de bacterias lácticas al inicio, en plena y al finalizar la FML.

Para realizar el recuento se realizaron en el instituto de investigación ICVV de la Grajera los pertinentes análisis. El método que se utilizó fue el de microscopia de fluorescencia en el cual se sustituye el tinte usado anteriormente en levaduras (eritrosina) por dos tintes fluorescentes. El tinte verde tiñe las bacterias vivas y el tinte

rojo tiñe las bacterias muertas. Para ello se empleó el Kit comercial Live/Dead® BacLight (Invitrogen). El equipo de fluorescencia está compuesto por: el microscopio Nikon, modelo Eclipse Ni-e, dirigido por el software Nisin-elements BR, y provisto del captador de imágenes Nikon DS-Ri2.

Se obtuvieron como resultado una serie de fotos en las que había que realizar un recuento de bacterias lácticas. Fueron un total de 6 fotos (3 de vivas y 3 de muertas) por barrica (un total de 6 barricas) en el inicio, plena y al finalizar la FML. En total se me entregaron 108 fotografías para contar las bacterias totales.

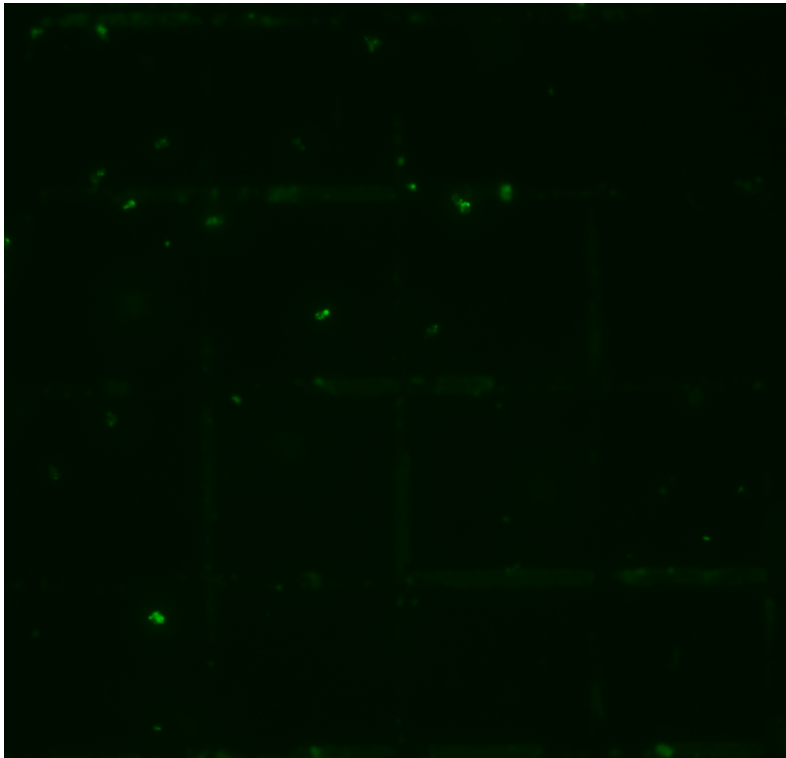


Foto 3. Recuento de bacterias lácticas vivas por microscopia fluorescente.

Los recuentos al igual que con las levaduras se realizaron con la cámara de Neubauer, se contaron bacterias totales, vivas y muertas siguiendo la ecuación anteriormente escrita para calcular el número de bacterias por mililitro.

$N^{\circ} \text{ bacterias/ml: } n^{\circ} (\text{levaduras por cuadradito}) \times 1000 \times \text{dilución} / 0.0125.$

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. ELABORACIÓN DE LOS VINOS TINTOS

#### Análisis enológicos de los mostos

En primer lugar, se debe destacar la alta calidad de la uva vendimiada en los viñedos de Roda en la vendimia del 2016. Una uva sana y libre de *Botrytis cinérea* y que no sufrió ningún tipo de plaga durante su maduración en cepa. El viñedo fue vigilado sobre todo para evitar la podredumbre y la polilla del racimo o Lobesia botrana.

Tabla 1. Datos de los análisis iniciales del mosto de uva previo al encubado

	Inox 6	Inox 7	Inox 8	Inox 9
Densidad (g/l)	1101	1100	1104	1100
Acidez total (g/L)	3.2	3.3	3.2	3.7
pH	3.47	3.49	3.56	3.48
Grado probable (%)	14.7	14.5	14.5	14.5
SO2 libre (mg/L)	9	8	9	7
Temperatura (°C)	16	16	17	18
FAN (mg/L)	67	95	91	111
Tartárico (g/L)	4.11	4.15	4.32	5.69
Málico (g/L)	1.75	1.71	2.23	1.93

Tabla 2. Parámetros iniciales del mosto encubado en los 4 depósitos inoxidables.

	Inox 6	Inox 7	Inox 8	Inox 9
IC	5.131	3.883	5.775	5.713
Antocianos (mg/L)	317	362.1	273	238.2
Acidez total* (g/L)	3.2	3.1	2.8	2.6
pH	3.6	3.61	3.68	3.7
Grado probable (%)	14.3	14.5	14.8	14.4
Málico(g/L)	1.87	1.62	1.5	0.64
Potasio(mg/L)	2403.8	2328.9	2299.4	2204.4
FAN(mg/L)	127	112	105	176
Glucónico(mg/L)	0.01	0.03	0.02	0.02

\*expresado en equivalentes g sulfúrico/L

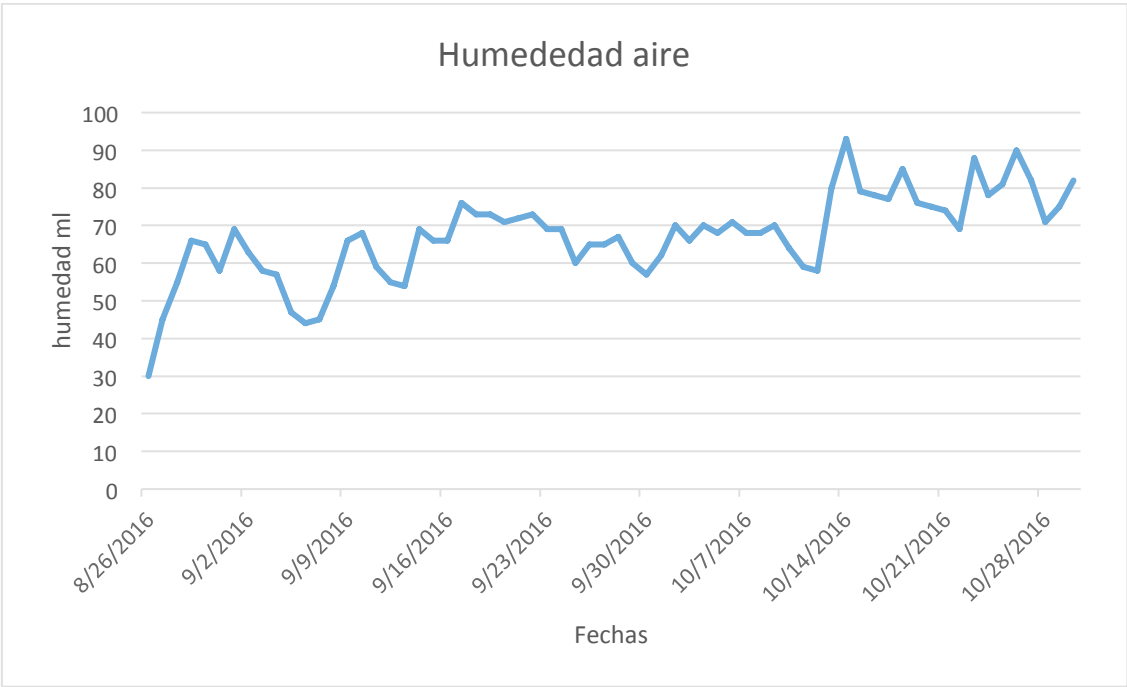
#### Meteorología

Tabla 3. Humedad media de los veranos 2010, 2015 y 2016 (Hr %) (calculado a partir de los datos de la tabla 1 del ANEXO)

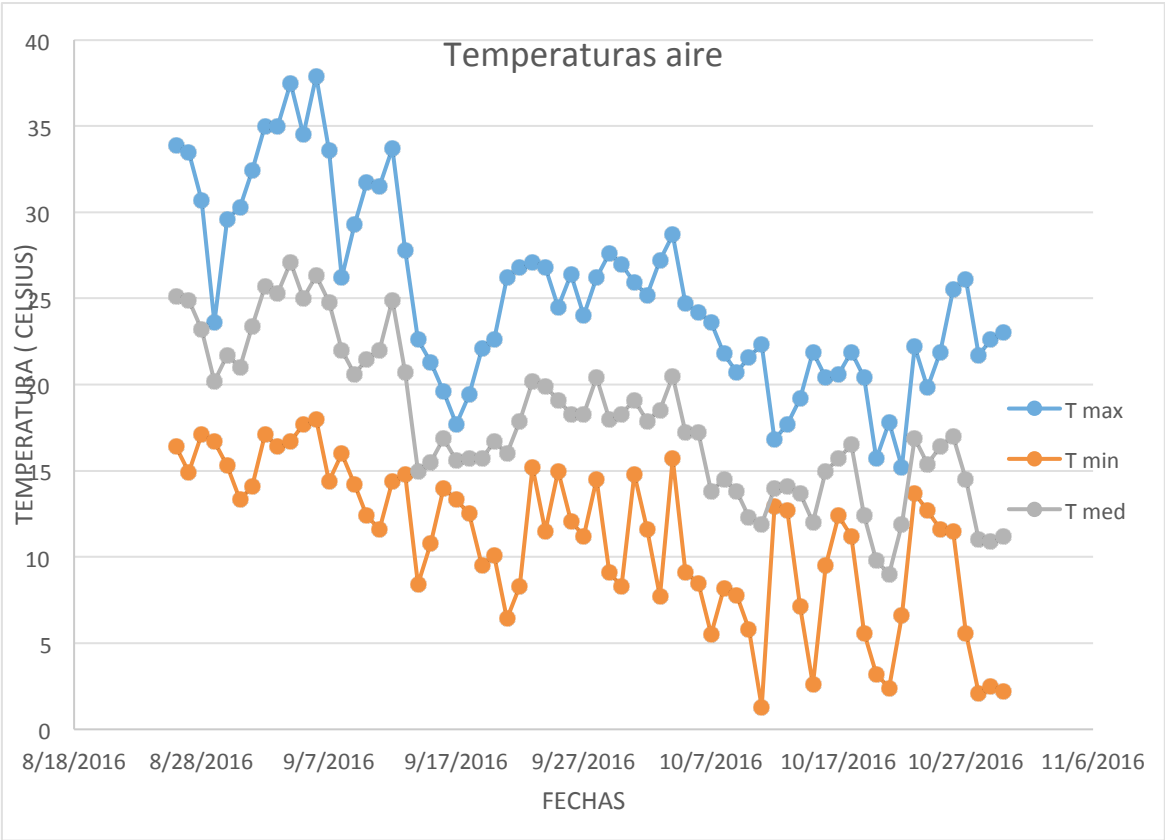
	2010	2015	2016
Valor promedio (Hr %)	68.5	67.6	64.7

Siendo el 2016 el verano más seco de estos tres ya considerados secos de por sí.

Gráfico 1. Humedad del aire en la zona de Casalarreina (Desde 25/08/2016 – 28/10/2016)



Gráfica 2. Temperatura del aire máxima, mínima y media.





Durante el periodo del envero y maduración de las bayas, cabe destacar que fue un periodo temporal algo más seco que veranos anteriores, como se puede observar en la Tabla 3 tomada de los datos proporcionados por el Gobierno de la Rioja ([www.larioja.org/agricultura/es/informacion-agroclimatica/consulta-personalizada](http://www.larioja.org/agricultura/es/informacion-agroclimatica/consulta-personalizada)). Este hecho sumado a una temperatura media y máxima alta contribuyó a generar en la planta un cierto estrés hídrico que favoreció la parada de crecimiento vegetativo y que se produjera una correcta maduración y estado fenológico.

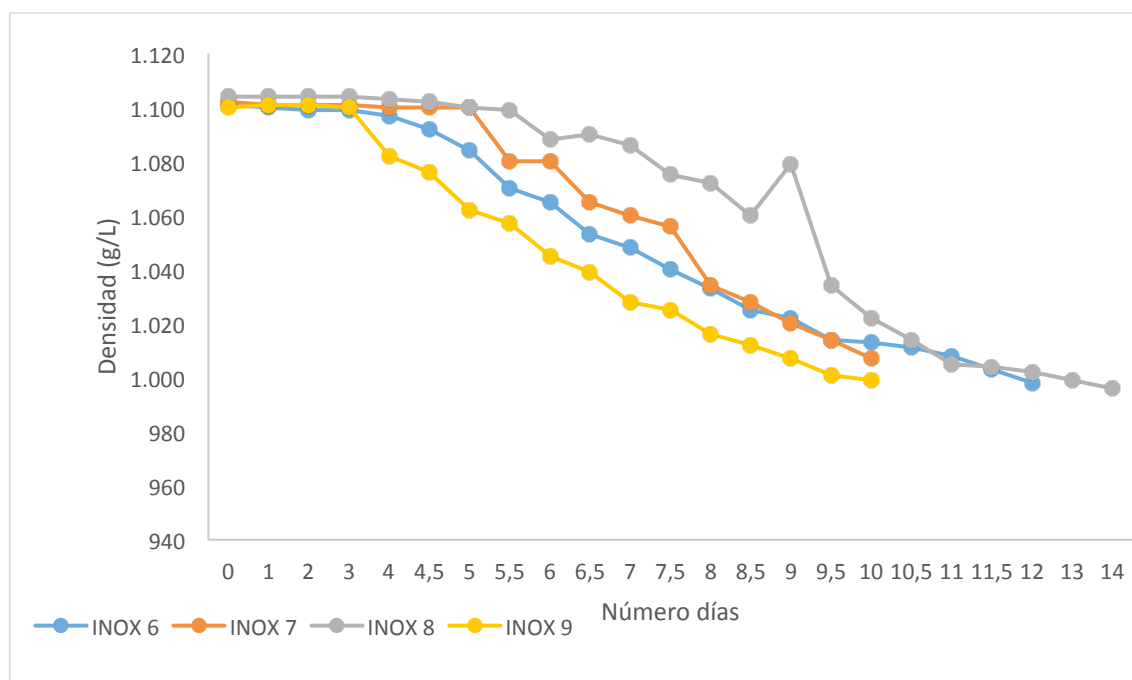
Es por eso que se obtuvieron un grado del 14.5% y una acidez de en torno a 4.6 g/L de tartárico. En definitiva, fue una uva con buenas condiciones de partida y apta para vinificar y obtener un buen resultado.

## **Desarrollo de la fermentación alcohólica**

Cabe destacar que la fermentación de los vinos en bodegas en Roda se realizó de manera espontánea ya que la fermentación del mosto la llevaron a cabo las levaduras ya existentes en el hollejo de la uva. Las poblaciones de levaduras en bayas son bastante limitadas, del orden de  $10^3$  a  $10^5$  células por grano de uva, dependiendo siempre del estado sanitario, condiciones climáticas y de los tratamientos realizados. (Santamaría, 2009)

Las especies de levaduras que suelen estar presentes en mayor proporción en la baya, son las del género *Kloeckera* y *Hanseniaspora*. Durante las primeras horas de elaboración se produce la multiplicación de los mismos géneros de levaduras que contiene la vendimia (*Kloeckera* y *Hanseniaspora*). Los primeros 2-3 días de fermentación correrán a cargo de éstas y al cabo de ese tiempo mueren por un aumento en la concentración de etanol. Paralelamente a la acción de estas levaduras, las levaduras de la especie *Saccharomyces cerevisiae*, que poseen gran poder alcohógeno, van poblando el medio y haciéndose con el control de la FOH hasta su finalización (Santamaría, 2009).

Gráfica 3. Evolución de la FOH en los cuatro depósitos estudiados: Densidad (g/L) vs tiempo (días desde el momento del encubado). (22-10-2016)



En cuanto a la FOH, de una manera general podemos ver cómo en los 4 depósitos experimentales se realizó la FOH en un periodo comprendido entre 10 y 14 días. Controlando la densidad y temperatura dos veces por día, se hizo un seguimiento completo de la fermentación y los resultados mostrados en la gráfica 3 son las curvas normales de fermentación; en la que el valor de la densidad va descendiendo a medida que van avanzando los días hasta que llega a un valor de 996/998 que se da por finalizado el proceso.

Tabla 4. Parámetros finales del vino obtenido en los 4 depósitos inoxidables.

	INOX 6	INOX 7	INOX 8	INOX 9
IC	12.36	14.64	17.21	15.67
Antocianos(mg/l)	650.8	673.4	766.5	780
Acidez total* (g/l)	3.95	3.99	4.3	3.7
pH	3.84	3.87	3.87	3.97
Grado alcohólico (%)	14.9	15.11	14.72	15.16
Málico(g/l)	0.17	0.04	1.39	0.32
A.V. (g/L)	0.44	0.43	0.28	0.36
A.R. (g/L)	1.27	1.3	1.4	1.05
Extracto seco (g/l)	31.4	33.1	33	35.8

\*expresado en equivalentes g sulfúrico/L

## Desarrollo de la fermentación maloláctica

Tabla 5. Parámetros iniciales del vino encubado en las barricas al inicio de la FML.

	Barrica 1	Barrica 2	Barrica 3	Barrica 4	Barrica 5	Barrica 6
IC	20.1	20	20.14	20.51	20.49	18.91
Antocianos (mg/L)	789.2	789.2	867.2	869.3	869.2	795.3
pH	3.72	3.73	3.73	3.85	3.8	3.95
A.T.* (g/L)	4.99	5	4.99	4.5	4.52	5.26
A.V. (g/L)	0.2	0.18	0.24	0.3	0.29	0.19
A.R. (g/L)	8.83	8.83	9.29	2.48	2.45	22.26
Málico (g/L)	2.53	2.5	2.22	2	1.99	1.84
Ext seco (g/L)	42.2	41.3	45.3	34.4	34.2	65.4
º Alcohólico	14.07	13.98	14.13	14.46	14.4	13.27

\*expresado en equivalentes g sulfúrico/L

Tabla 6. Parámetros del vino al final de la FML y duración de la misma

	Barrica 1	Barrica 2	Barrica 3	Barrica 4	Barrica 5	Barrica 6
Duración (días)	23	23	23	34	34	38
IC	12.36	12.3	14.64	15.25	15.28	16.94
Antocianos (mg/L)	650.8	648.7	673.4	703.2	702.3	715.4
pH	3.84	3.82	3.87	3.85	3.79	3.6
A.T.* (g/L)	3.95	3.98	3.99	3.4	3.54	4.13
A.V. (g/L)	0.44	0.4	0.43	0.42	0.43	0.39
A.R. (g/L)	1.27	1.27	1.3	0.87	1	1.45
Málico (g/L)	0.17	0.18	0.04	0.25	0.27	0.22
Extracto seco (g/L)	31.4	31.4	33.1	31.7	30	31.3
º Alcohólico	14.9	14.9	15.11	15.2	15.4	15.43

\*expresado en equivalentes g sulfúrico/L

Tabla 7. Valores promedio y desviaciones estándar de los datos de la tabla 5 correspondientes al inicio de la FML.

	PROMEDIO Barricas CON	DESV. Barricas CON	PROMEDIO Barricas SIN	DESV. Barricas SIN
IC	20.08	0.07	20.22	0.92
Antocianos mg/l	815.20	45.03	841.90	42.70
pH	3.73	0.01	3.77	0.08
A.T.* (g/l)	4.99	0.01	4.83	0.43
A.V. (g/l)	0.21	0.03	0.24	0.06
A.R. (g/l)	8.98	0.27	6.87	11.43
Málico (g/l)	2.42	0.17	2.24	0.09
Extracto seco (g/L)	42.93	2.10	40.33	17.96
º Alcohólico	14.06	0.08	14.19	0.67

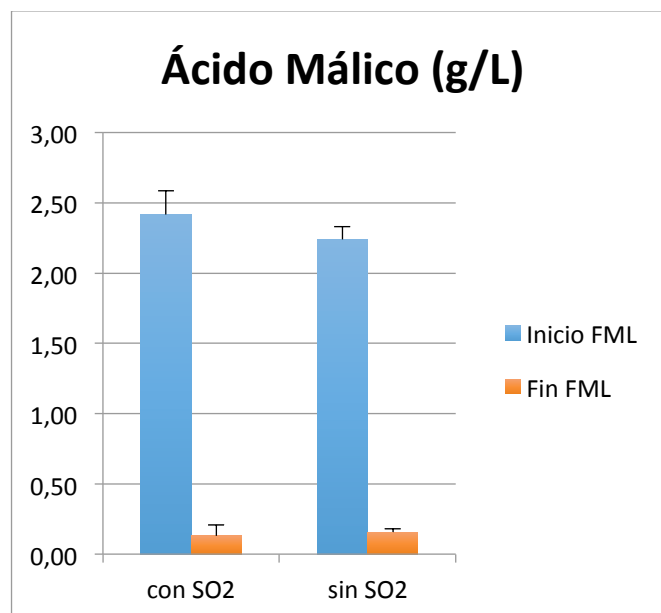
\*expresado en equivalentes g sulfúrico/L

Tabla 8. Valores promedio y desviaciones estándar de los datos de la tabla 6 correspondientes al final de la FML.

	PROMEDIO Barricas CON	DESV. Barricas CON	PROMEDIO Barricas SIN	DESV. Barricas SIN
Duración días.	23	0	35.33	2.31
IC	13.10	1.33	14.06	0.97
Antocianos (mg/l)	647.63	3.81	665.10	7.32
pH	3.84	0.03	3.85	0.13
A.T.* (g/l)	3.94	0.05	3.75	0.39
A.V. (g/l)	0.42	0.02	0.42	0.02
A.R. (g/l)	1.28	0.02	1.15	0.3
Málico (g/l)	0.13	0.08	0.16	0.03
Extracto seco (g/L)	31.97	0.98	32.07	0.89
º Alcohólico	14.97	0.12	15.3	0.13

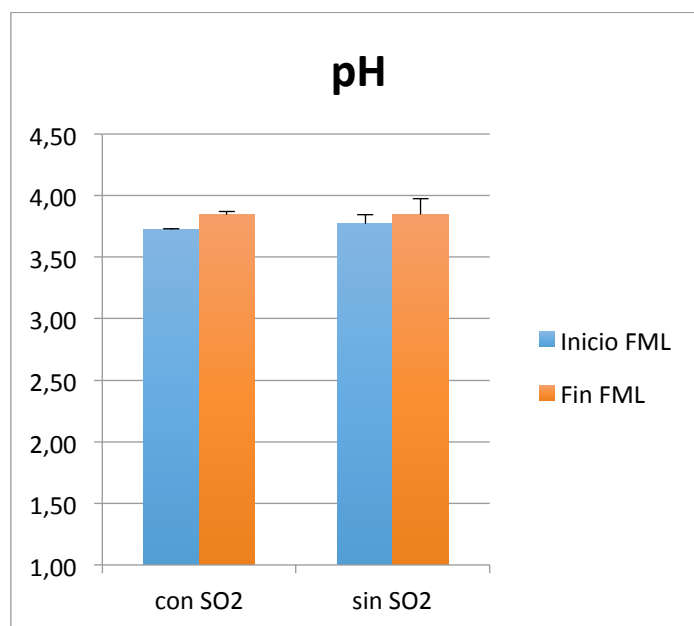
\*expresado en equivalentes g sulfúrico/L

Gráfica 4. Evolución del ácido málico en las barricas con y sin sulfuroso.



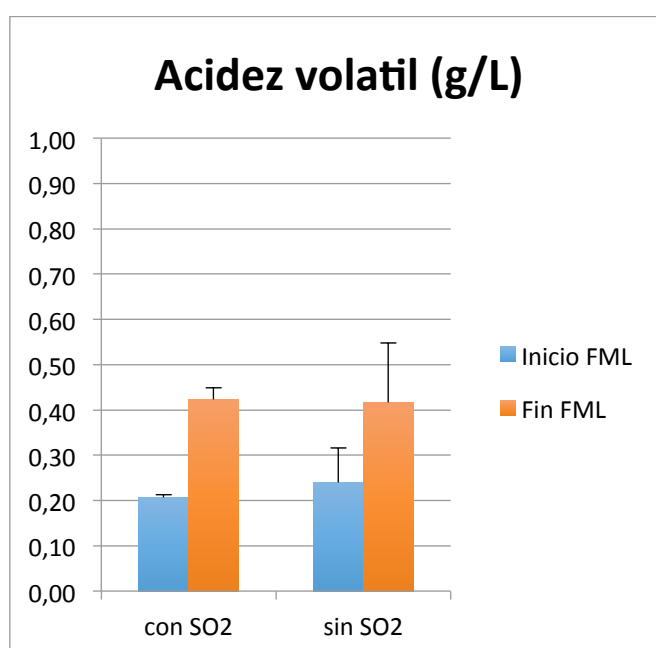
La gráfica 4 muestra la concentración del ácido málico y cómo desciende debido a que las bacterias lácticas lo degradan y lo transforman en ácido L-láctico. Esta transformación conlleva la denominada desacidificación biológica que sufre el vino en este proceso (Hidalgo, 2011c). Estos resultados muestran que hay mayor cantidad de ácido málico en las barricas con sulfuroso y que en ambos casos desciende hasta valores cercanos a cero debido al proceso de la FML. En el caso de los vinos sin adición de SO<sub>2</sub>, los niveles de málico pueden ser menores debido a que durante la FOH podría haber comenzado parcialmente su degradación ya que es un ácido lábil y fácilmente degradable por los microorganismos.

Gráfica 5. Evolución del pH del vino durante la FML en las barricas con y sin sulfuroso.



En la gráfica 5, vemos otro efecto del cual es responsable la FML. Sé produce la desacidificación, que muestra el aumento de pH tanto en las barricas con sulfuroso como en las que no se le añadió éste. Este resultado es la consecuencia de la transformación de un di-carboxílico, el ácido L-málico, en un mono-carboxílico, el ácido L-láctico, así como el uso de otros ácidos orgánicos: ácido cítrico, ácido pirúvico, etc. por las bacterias lácticas durante la FML. Como podemos ver los resultados del pH de las barricas sin adición de SO<sub>2</sub> tienen mayor desviación estándar.

Gráfica 6. Evolución acidez volátil durante la FML en barricas con y sin sulfuroso.

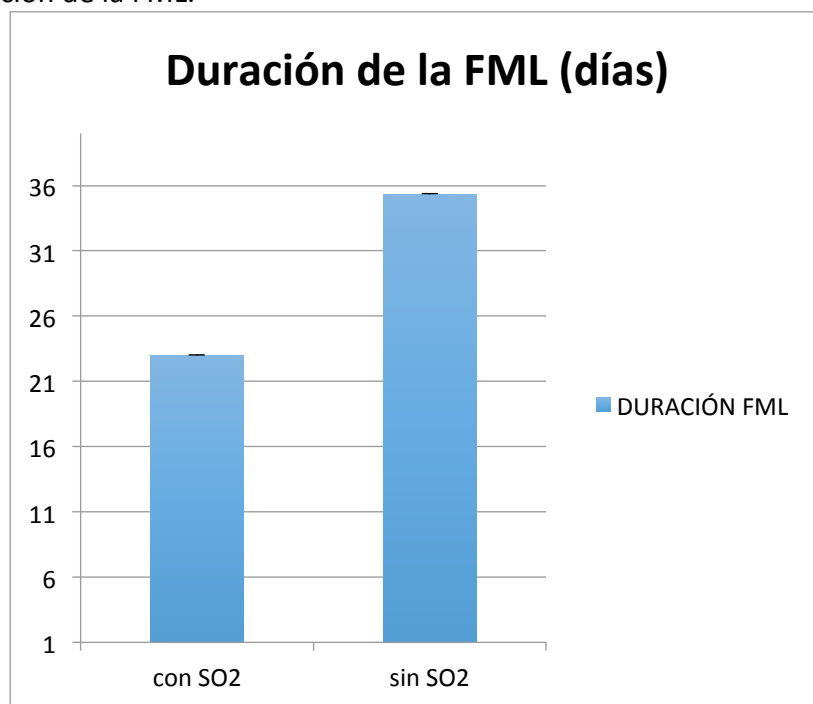


Como vemos en la gráfica 6, la acidez volátil tiende a aumentar a lo largo de la FML tanto en las barricas con sulfuroso, como en las que no se añadió este compuesto, y se observa que hay una mayor variabilidad de los valores (barras de desviación estándar mayores) en los vinos sin adición de SO<sub>2</sub> que en los que se añadió este compuesto.

El aumento de acidez volátil se debe a que durante el proceso de FML las bacterias lácticas generan como producto de su metabolismo ácido acético (Peynaud, 1996).

En los dos casos anteriores, el pH y la acidez volátil de los vinos con FML son indicadores del metabolismo de las bacterias lácticas, y en el caso de los vinos sin adición de SO<sub>2</sub> se puede suponer que el crecimiento de éstas fue más desordenado, se pudo iniciar durante la FOH y con una población mixta mucho más compleja que en los vinos sulfitados, en los cuales sólo sobrevivieron aquellas cepas más resistentes y la población era en consecuencia más uniforme.

Gráfica 7. Duración de la FML.

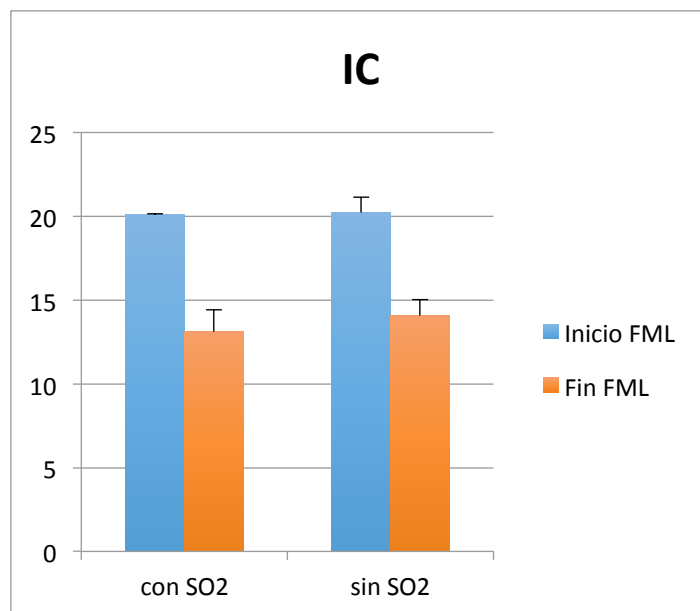


Valores promedio y desviaciones estándar de los triplicados

En cuanto a la gráfica comparativa de la duración de la FML, podemos observar que la duración de este proceso fue significativamente superior en las barricas sin tratamiento con anhídrido sulfuroso. Al observar las gráficas 17 y 18 de recuento de bacterias lácticas, se llegó a la conclusión de que había poblaciones más bajas en las barricas sin sulfitar y que por eso el proceso había sido más largo. Este resultado no era el esperado, puesto que sin adición de sulfuroso cabía esperar poblaciones más elevadas de bacterias lácticas y una FML más rápida. Sin embargo, el grado alcohólico algo superior de los vinos sin adición de sulfuroso (15,3 %) con respecto al grado de los vinos con adición (14,97 %), su ligeramente menor contenido en málico después del

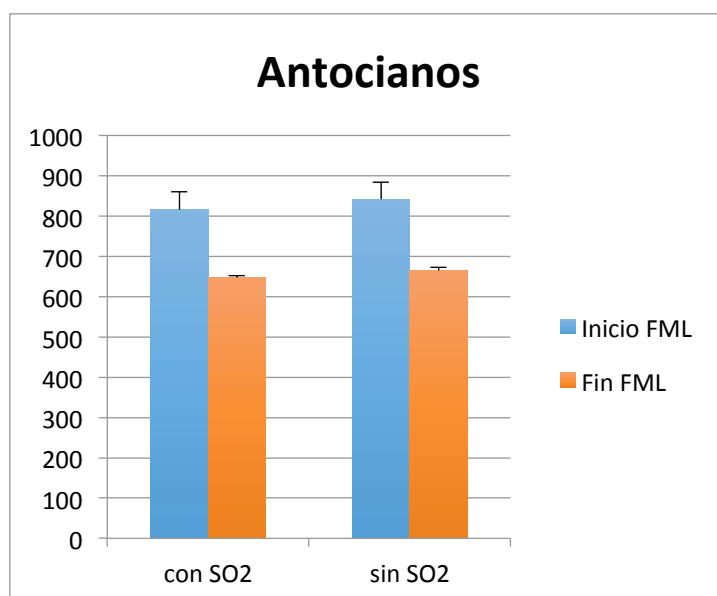
descube (2,2 g/L) que de los vinos sulfitados (2,42 g/L), y una posible población bacteriana mixta en la que entran en juego factores de competición, pueden haber sido la causa de este resultado. De todo modos, la duración de la FML de 34 días de estos vinos sin adición de sulfuroso, es un periodo habitual y muy correcto para la FML.

Gráfica 8. Índice de color de los vinos de las barricas con y sin sulfuroso.



Valores promedio y desviaciones estándar de los triplicados

Gráfica 9. Concentración de antocianos de los vinos de las barricas con y sin sulfuroso.



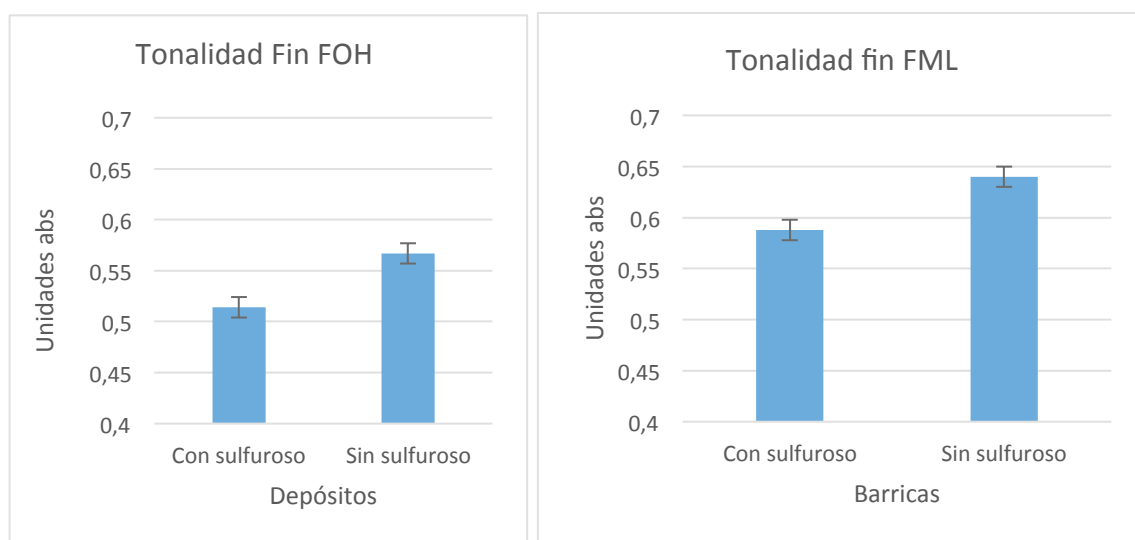
Valores promedio y desviaciones estándar de los triplicados



Sí observamos las gráficas anteriores, el índice de color y la concentración de antocianos descienden tanto en los vinos sulfitados como en los no sulfitados,

Este descenso se debe, entre otras causas, a la precipitación de materia colorante que se produce durante la FML (Ribéreau-Gayon et al., 2006). La desaparición de grupos ácidos carboxílicos y la desacidificación que se producen con la FML, desestabilizan los equilibrios entre antocianos libres, combinados, pigmentos poliméricos y copigmentos, y desciende el color de los vinos tintos (Álvarez et al., 2009).

Gráfica 10. Tonalidad de los vinos.

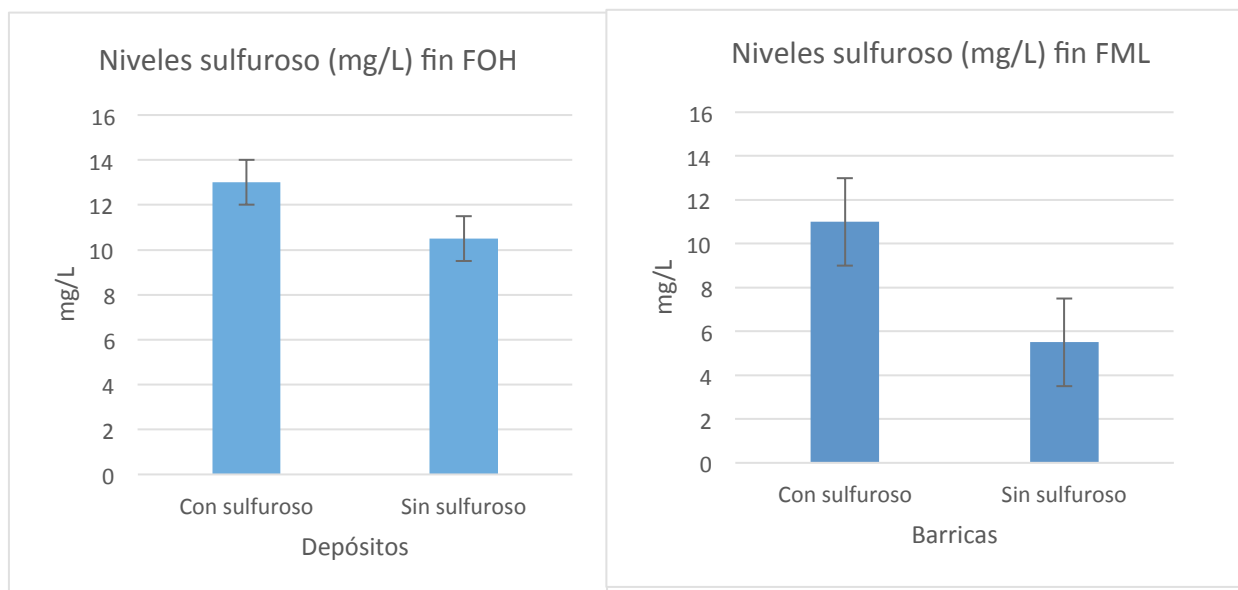


Si observamos la gráfica anterior, podemos ver que la tonalidad es superior en vinos sin tratamiento de sulfuroso tanto en depósitos como en barricas. La tonalidad de los vinos sulfitados aumentó desde 0.51 en el momento del descube hasta 0.57 con la FML finalizada, mientras que la tonalidad de los vinos sin sulfitar aumentó desde 0.58 al valor final de 0.64. La tonalidad o matiz se estima calculando el cociente de las absorbancias correspondientes a las longitudes de onda de 420 y 520 nm. Este parámetro es un buen indicador de la oxidación del vino. Esos resultados son lógicos ya que el sulfuroso es antioxidante y los vinos tratados con sulfuroso se encontraban más protegidos frente a las oxidaciones (Boulton et al., 2005).

Gráfica 11. Niveles de SO<sub>2</sub> libre al finalizar la FOH y la FML

A) SO<sub>2</sub> FIN FOH

B) SO<sub>2</sub> FIN FML



Estudiando el nivel de sulfuroso de los vinos durante ambos procesos de la FOH y la FML, se obtuvieron los resultados mostrados en la gráfica 11. En los depósitos con adición, se sulfitó 35 ppm justo en el momento del encubado. Como podemos ver en la gráfica A) el valor de sulfuroso libre en los depósitos tratados es de 13 mg/l, superior a los 10.5 mg/l de sulfuroso libre existente en el vino sin sulfitar. Esta cantidad de sulfuroso en los vinos no sulfitados se genera por el metabolismo de las levaduras.

La gráfica B) muestra al igual que la anterior, que el sulfuroso libre es superior en las barricas que contienen el vino sulfitado (11 mg/l) con respecto a las barricas que contienen vino sin sulfitar (5.5 mg/l). Estos valores de sulfuroso libre son más reducidos que en los depósitos porque tras 30 días de FML el sulfuroso libre se ha ido combinando. Durante todo el procesado de estos vinos en la bodega no se volvió a sulfitar hasta después de la FML.

Durante el proceso de crianza se sulfitaron las barricas con tratamiento de sulfuroso hasta alcanzar niveles de 30 mg/L, en cambio las de sin sulfuroso se mantuvieron sin adición durante todo el proceso de crianza.

## 4.2. RESULTADOS ANÁLISIS SENSORIAL DE LOS VINOS

Tras la cata y a la vista de las fichas descriptivas empleadas, el tratamiento de los resultados se realizó estudiando las respuestas y las valoraciones de los 13 enólogos que formaron el panel de catadores expertos. A continuación se muestran en las tablas siguientes los resultados.

Tabla 9. Análisis sensorial: fase visual de los vinos con y sin sulfuroso.

Fase de cata	Rasgos	Vino con SO <sub>2</sub>	Vino sin SO <sub>2</sub>
Fase visual	Color	13 catadores coinciden rojo-violáceo	13 catadores coinciden rojo-violáceo menos intenso
	Limpidez	10 catadores indican que está más limpio que el sin sulfuroso.	3 catadores indican que está más limpio que el con sulfuroso.
	Intensidad	12 catadores indican que es más intenso que el sin sulfuroso.	Solo un catador piensa que es más intenso. 12 que está más apagado.
Consideración global		Sin defectos en fase visual	Sin defectos en fase visual

Tabla 10. Análisis sensorial: fase olfativa de los vinos con y sin sulfuroso.

Fase de cata	Rasgos	Vino con SO <sub>2</sub>	Vino sin SO <sub>2</sub>
Fase olfativa	A copa parada	10 catadores indican que es más intenso que el sin sulfuroso. (Fresa, fruta roja)	3 catadores indican que es más intenso que el con sulfuroso a copa parada ( frutas del bosque)
	A copa agitada	10 catadores indican que es más intenso que el sin sulfuroso y que se potencian aromas de regaliz rojo.	3 catadores indican que a copa agitada es más intenso el aroma del vino sin sulfuroso.
Consideración global		Sin defectos en fase olfativa	Sin defectos en fase olfativa

Tabla 11. Análisis sensorial fase gustativa de los vinos con y sin sulfuroso.

Fase de cata	Rasgos	Vinos con SO <sub>2</sub>	Vinos sin SO <sub>2</sub>
Fase gustativa	Intensidad	13 catadores indican media-alta.	13 catadores indican media alta.
	Cuerpo	13 catadores indican que tiene cuerpo complejo. (Fresa, yogurt)	13 catadores indican que tiene cuerpo complejo. (Fresa, yogurt)
	Persistencia	12 catadores indican que tiene persistencia baja, uno alta.	13 catadores indican que tiene persistencia baja.
	Retrogusto	Los 13 indican retrogusto a fresa madura y frambuesa.	Los 13 indican retrogusto a fresa madura y frambuesa.
Consideración global		Sin defectos en fase gustativa	Sin defectos en fase gustativa

El resultado fue muy claro. Los vinos no tenían ningún defecto en ninguna de las fases del análisis sensorial. El vino sin adición de sulfuroso tenía menor intensidad colorante y olfativa que el vino que había sido tratado con sulfuroso.

Los dos tenían un color rojo violáceo característico de los vinos tintos jóvenes, pero era menos intenso en el caso del vino sin tratamiento, esto ha sido contrastado con el análisis de la tonalidad representado en la gráfica 10 y se puede deducir que se debe a una cierta desprotección del vino al no contar con el efecto antioxidante del sulfuroso. El vino tratado con sulfuroso estaba más limpio y tenía una intensidad aromática media-baja, mayor que la del vino sin adición. Para corroborar estos resultados de intensidad aromática mediante análisis químicos, sería necesario realizar una cromatografía de gases de ambos vinos para analizar y cuantificar las moléculas volátiles presentes en cada uno de estos vinos. En boca es donde más similitud encontraron los enólogos, sus fichas hablan de vinos de intensidad similar, sabores a frutas rojas, regaliz, frambuesas y fresas.

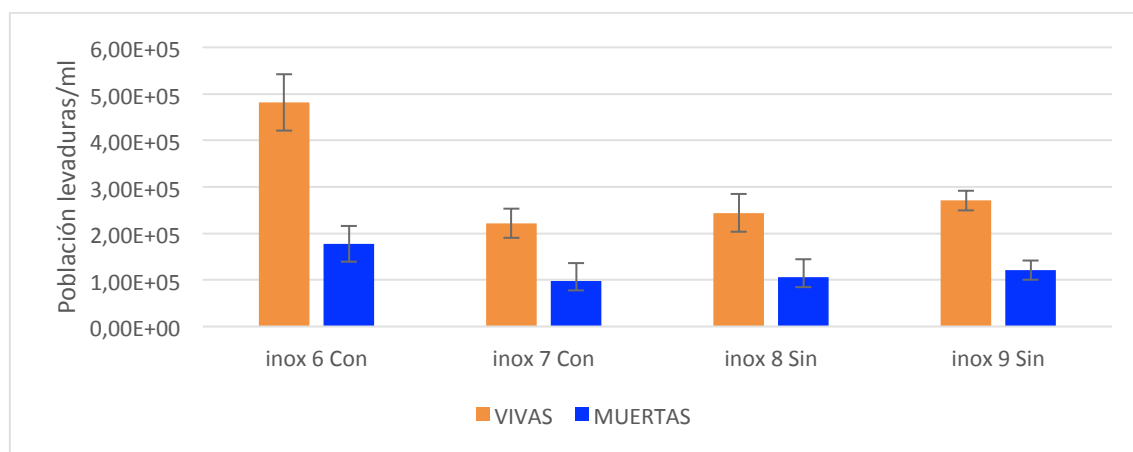
En conclusión mi opinión es que la no adición de sulfuroso pudo dejar el vino algo más desprotegido de la acción del aire y éste pudo oxidar ligeramente el color y el olor a pesar de que en el proceso de elaboración se fue muy cauteloso creando una atmósfera inerte de nitrógeno para evitar el contacto con el oxígeno del aire.

### 4.3. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS

A continuación se incluyen las gráficas de la población de levaduras viables y no viables de las muestras del vino durante la FOH, el inicio de la FML y plena FML.

#### Recuentos de levaduras

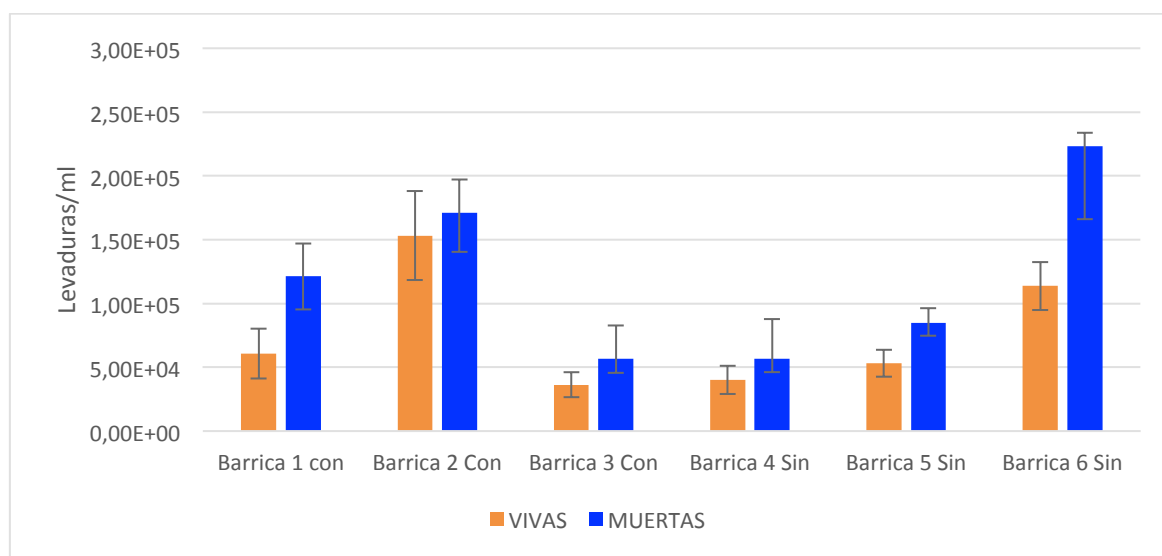
Gráfica 12. Población de levaduras en los vinos al final de la FOH.



(22-10-2016)

Como es normal la población de levaduras vivas es ampliamente superior en comparación con las muertas en los 4 depósitos, ya que estos recuentos se producen justo al finalizar la FOH. Las levaduras vivas se encuentran en el rango entre  $2.22 \times 10^5$  y  $4.81 \times 10^5$  y las muertas entre los valores  $9.75 \times 10^4$  y  $1.78 \times 10^5$  por lo que en efecto, la población de levaduras vivas en cualquiera de los 4 depósitos fue superior a la de muertas.

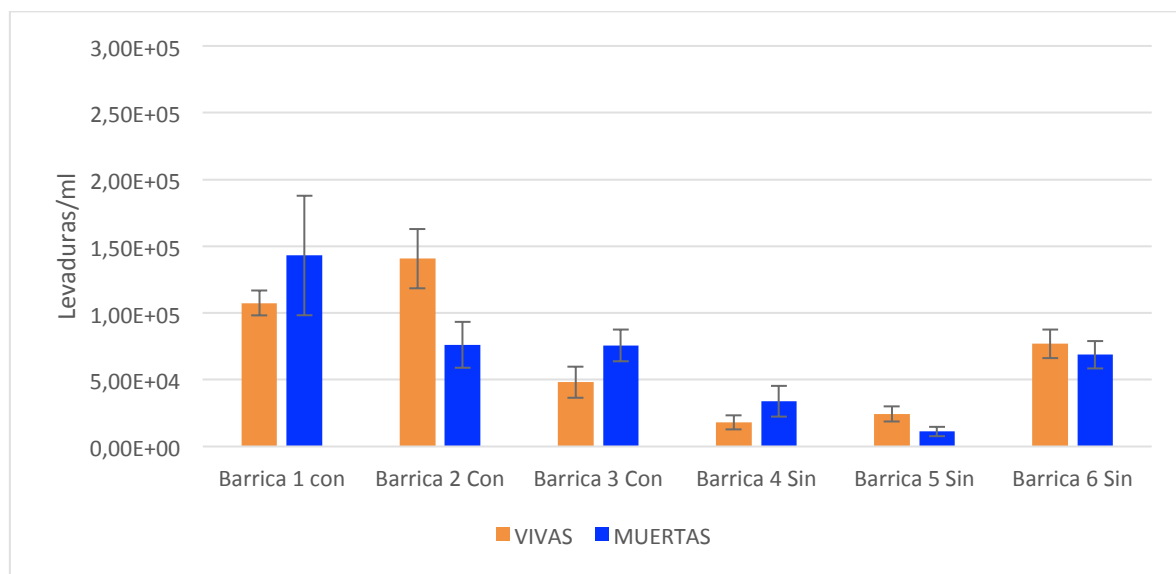
Gráfica 13. Población de levaduras al inicio de la FML.



(25-10-2016)

Como vemos en esta gráfica, se estaba finalizada la FOH y la población de levaduras vivas empezaba a decrecer. Se observa que la población de levaduras muertas es superior a la de vivas. Las levaduras muertas se encuentran en el rango comprendido entre  $5.69 \cdot 10^4$  y  $2.23 \cdot 10^5$  que es superior al rango de valores de las poblaciones de levaduras vivas que está comprendido entre  $3.63 \cdot 10^4$  y  $1.53 \cdot 10^5$ . De manera general se empieza a ver un descenso de poblaciones con respecto a la gráfica 12.

Gráfica 14. Población de levaduras en plena FML.



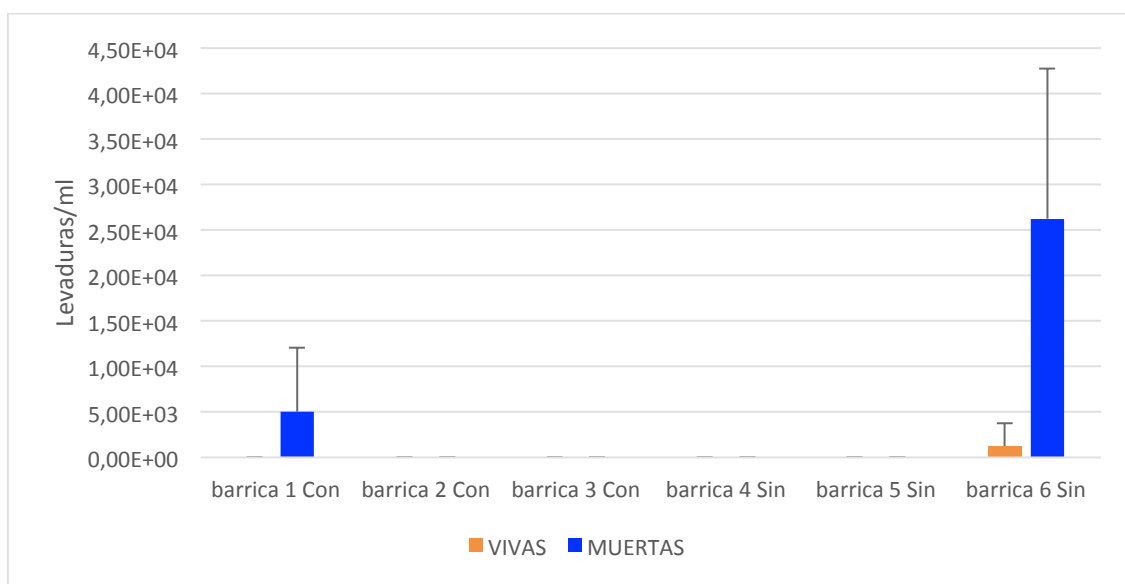
(7-11-2016)

Como se puede observar en la gráfica la población de levaduras es muy heterogénea. En cuatro barricas (2,4,5 Y 6) el número de levaduras vivas disminuye con respecto a los valores de la gráfica 13. En las otras dos barricas (1 y 3) los niveles de levaduras vivas aún se mantienen.

La razón por la que la población de levaduras desciende continuamente como vemos en todas las gráficas, es que con el paso del tiempo las levaduras carecen de azúcares y de nutrientes y entran en la fase de agotamiento. Las levaduras irán muriendo progresivamente y también por el efecto tóxico del etanol que ellas mismas han generado.

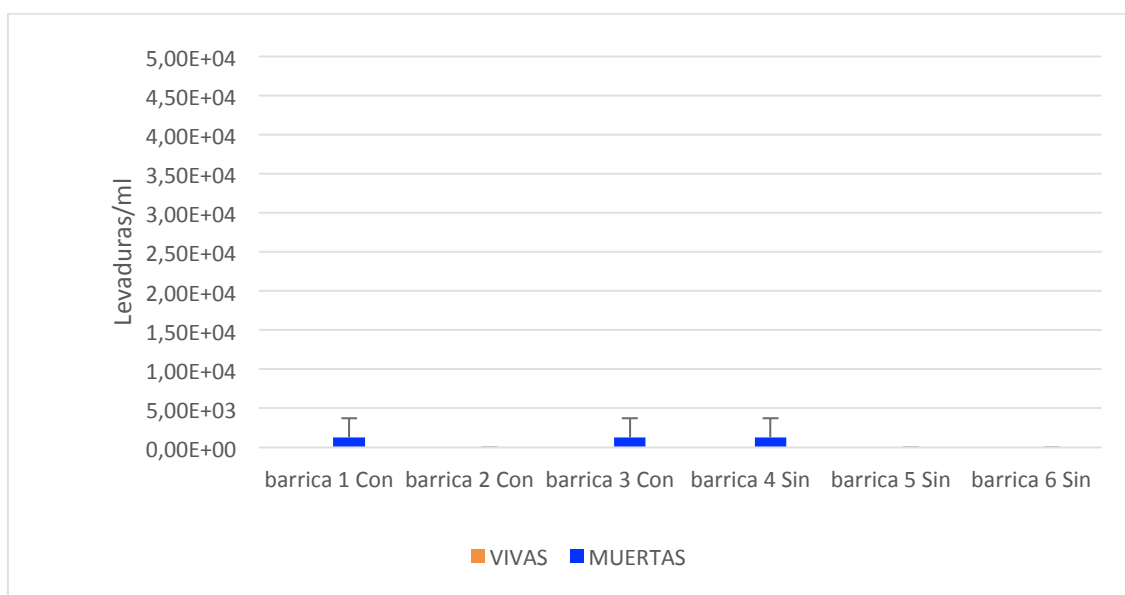
Por último, se analizó la población de levaduras durante el periodo de crianza del vino y una vez finalizada la FML. En e periodo de crianza se tomaron muestras los días: 19-12-2016 y 22-01-2017. A continuación, se muestran las gráficas con los resultados de los recuentos.

Gráfica 15. Recuento de levaduras durante el periodo de crianza.



(19-12-2016)

Gráfica 16. Recuento de levaduras durante el periodo de crianza.



(22-01-2017)

En estas dos gráficas se puede observar ya la escasa población de levaduras y que las pocas existentes ya estaban muertas.

## Recuento de bacterias lácticas

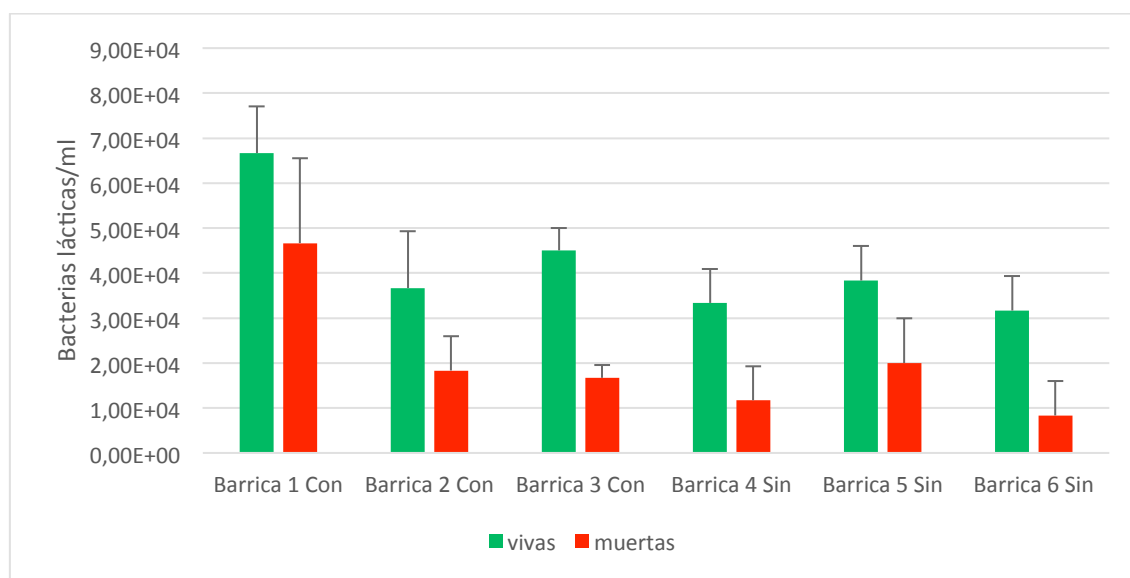
Estos recuentos se realizaron al principio, durante y al final de la FML. Se analizaron las muestras de vino por microscopia de fluorescencia.

Al principio del proceso de vinificación, los mostos recién estrujados presentan una escasa población de bacterias lácticas, en torno a  $10^2$  o  $10^3$  células por ml, siendo estas poblaciones de los géneros *Pediococcus*, *Lactobacillus* y *Leuconostoc*. Posteriormente con el desarrollo de las levaduras y la formación de etanol durante la fermentación alcohólica, se produce un gran descenso en la población bacteriana quedando solo los géneros más resistentes.

Una vez ha concluido la fermentación alcohólica, la lisis de las levaduras produce un importante crecimiento bacteriano debido a los nutrientes que quedan liberados y que permiten el inicio de la FML. (Suárez Lepe, 2003).

Como se puede leer en el tratado de enología de Hidalgo (2011c) tras la finalización de la fermentación alcohólica habrá un breve periodo de latencia (10-15 días) en el que apenas habrá crecimiento bacteriano, una vez superado ese periodo las bacterias más adaptadas a medio hostil (*Oenococcus oeni* o *Pediococcus*) empezarán a proliferar y multiplicarse exponencialmente aprovechando los restos celulares de las levaduras y empezando así la FML con poblaciones en torno a  $10^5$  o  $10^6$  células por ml.

Gráfica 17. Población de bacterias lácticas al inicio de la FML.



(25-10-2016)

En la gráfica 17, vemos que las bacterias vivas superan en número a las muertas. Esto es normal debido a que la lisis de las levaduras y la presencia de ácido málico son condiciones favorables para su desarrollo.

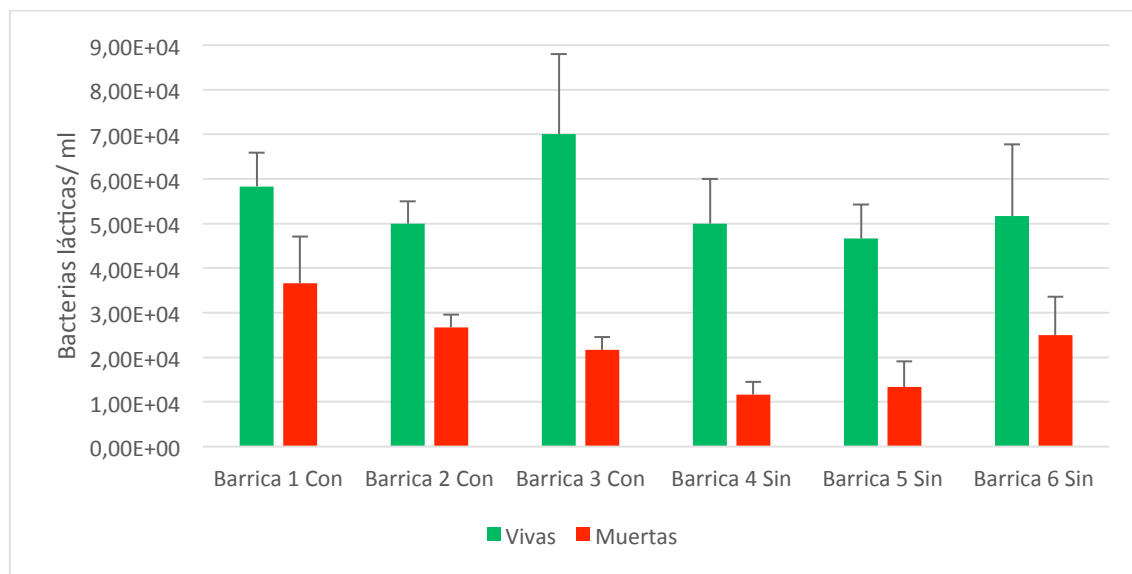
Otro aspecto importante que se ve en la gráfica es que la población de bacterias lácticas en los vinos sulfitados es ligeramente superior a la de los vinos sin adición de sulfuroso. La población de bacterias lácticas en los sulfitados está entre los valores



$4.50 \times 10^4$  y  $6.67 \times 10^4$  células/ml que son valores algo más elevados que en los vinos sin sulfitar, que está entre  $3.17 \times 10^4$  y  $3.83 \times 10^4$  células/ml.

Que la población de bacterias lácticas vivas fuera ligeramente inferior en vinos sin adición de sulfuroso puede ser la razón para explicar porque la duración de la FML fue significativamente mas larga que la de los vinos sulfitados.

Gráfica 18. Población de bacterias lácticas durante la FML.

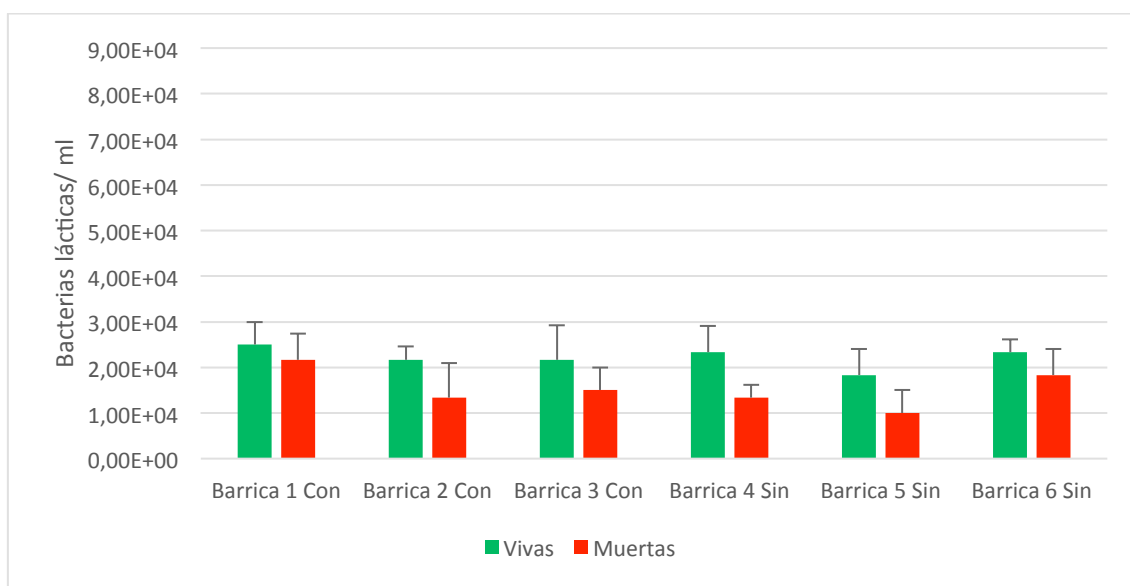


(07-11-2016)

En plena FML podemos ver que en todas las barricas el número de bacterias lácticas vivas fue superior al de muertas, como ocurría en la gráfica 17. El número de bacterias vivas en las barricas sulfitadas está entre  $5.83 \times 10^4$  y  $7 \times 10^4$  y el de barricas sin sulfitar entre  $4.67 \times 10^4$  y  $5.17 \times 10^4$ . Estos datos muestran que la población de bacterias vivas es algo superior a la de los valores obtenidos en inicio de FML, las poblaciones de ambas gráficas (17 y 18) no han sufrido grandes cambios y son similares.

Los valores resultantes son bajos con respecto a lo esperado en plena FML en la que se puede llegar a alcanzar valores de población de bacterias del orden de  $10^6$  e incluso superiores (Hidalgo, 2011c).

Gráfica 19. Población de bacterias lácticas al final de la FML.



(19-12-2016)

Por último, esta gráfica nos muestra la población de bacterias cuando está finalizada la FML, y se observa que la población de bacterias vivas (comprendida entre  $1.83 \times 10^4$  y  $2.50 \times 10^4$  células/ml) disminuye en comparación con los valores mostrados en las dos gráficas anteriores.

En estos momentos en los que ya se ha finalizado la conversión del ácido málico a láctico, la población de bacterias comienza a disminuir y su supervivencia dependerá de factores como la temperatura, adición en su caso de sulfuroso, el trasegado y la clarificación del vino y, en cualquier caso el control o la eliminación de esas poblaciones remanentes será un aspecto muy importante para mantener la calidad de los vinos elaborados y que no sufran alteraciones posteriores.

## **5. CONCLUSIONES**

1. Se elaboraron dos tipos de vinos tintos de la variedad Tempranillo de la D.O.Ca. Rioja de la vendimia 2016: siguiendo el método tradicional de elaboración con adición de sulfuroso, y sin adición alguna de sulfuroso.
2. Las fermentaciones alcohólica y maloláctica se llevaron a cabo satisfactoriamente de manera espontánea con las levaduras y bacterias lácticas endógenas del mosto y del vino, sin adición de cultivos iniciadores. Las FOH se desarrollaron en un periodo de 10-14 días, y las FML de los vinos sulfitados en 23 días, mientras que los no sulfitados lo hicieron en 34-38 días.
3. Durante las fermentaciones los vinos sin adición de sulfuroso presentaron unos niveles que alcanzaron los 10,5 mg/L de sulfuroso libre, generado por el propio metabolismo de las levaduras endógenas.
4. Los análisis físico-químicos pusieron de manifiesto una cierta mayor variabilidad en los parámetros de pH, acidez volátil e índice de color en los vinos elaborados sin adición que en los vinos con adición de sulfuroso.
5. Los vinos elaborados sin adición de sulfuroso presentaron una tonalidad de 0,64, y los vinos con adición 0,58, diferencia debida a la actividad antioxidante del sulfuroso.
6. Los análisis microbiológicos realizados mediante técnicas de recuento cultivo-independientes, tanto de levaduras como de bacterias, no mostraron ninguna diferencia notable entre las poblaciones microbianas de los vinos elaborados con y sin adición de sulfuroso.
7. El análisis sensorial final de los vinos puso de manifiesto una ligera menor intensidad del color y del aroma en los vinos elaborados sin adición de sulfuroso que los elaborados con adiciones, si bien ambos tipos de vinos presentaron las características deseadas de calidad.

## 6. REFERENCIAS

- Álvarez, I, Aleixandre JL, García MJ. 2009. Effect of the prefermentative addition of copigments on the polyphenolic composition of Tempranillo wines after malolactic fermentation. *European Food Research and Technology*, 228 (4): 501-510
- Ban G-Y, Kim M-A, Yoo H-S, Ye Y-M, Park H-S. 2017. Two Major Phenotypes of Sulfite Hypersensitivity: Asthma and Urticaria. *Yonsei Medical Journal*. 55(2):542-544. doi:10.3349/ymj.2014.55.2.542.
- Bonneu M, Crouzet M, Urdaci M, Aigle M. 1991. Direct detection of yeast mutants with reduced viability on plates by erythrosine B staining. *Anal Biochem*. 193(2):225-230.
- Boulton, R.B. Singleton, L.F. Bisson y R.E. Kunkee. Principles and practices of winemaking. Páginas 464-468. Chapman and Hall (New York) 2005.
- Bravo.J. 1996. Vinos de la Rioja. Páginas 14-18. Ed. El País Aguilar.
- Hidalgo Togores, J. 2011a. *Tratado de Enología*, tomo 1, páginas 477-479. Ed. Mundi-Prensa Libros.
- Hidalgo Togores, J. 2011b. *Tratado de Enología*, tomo 1, página 492. Ed. Mundi-Prensa Libros.
- Hidalgo Togores, J. 2011c. *Tratado de Enología*, tomo 1, página 644-645. Ed. Mundi-Prensa Libros.
- Peyneaund, E. 1996. Enología práctica. Pag 141. Ed. Mundi-Prensa libros (3ª edición)
- Santamaría Aquilué. M. P. 2009. Ecología de la fermentación alcohólica en la D.O.Ca Rioja, tesis doctoral Ur. Páginas 24-25.
- Suarez Lepe. J.A. 2003. Microbiología enológica, fundamentos de vinificación. Pag 362. Ed. Mundi-Prensa libros (3ª edición)
- Ribéreau- Gayon. J. 1994. *Tratado de Enología - Ciencias y Técnicas del Vino IV* . Curva de crecimiento de las levaduras.
- Ribéreau-Gayon, P., Dubourdie, D., Donèche, B., and Lonvaud-Funel, A. 2006. Handbook of Enology: the Microbiology of Wine and Vinifications, 2 ed. Wiley. vol 2: p230.

### Página de internet consultada

- [http://www.aecosan.msssi.gob.es/AECOSAN/docs/documentos/seguridad\\_alimentaria/gestion\\_riesgos/Re-evaluacion\\_EFSA\\_sulfitos.pdf](http://www.aecosan.msssi.gob.es/AECOSAN/docs/documentos/seguridad_alimentaria/gestion_riesgos/Re-evaluacion_EFSA_sulfitos.pdf)
- [www.larioja.org/agricultura/es/informacion-agroclimatica/consulta-personalizada](http://www.larioja.org/agricultura/es/informacion-agroclimatica/consulta-personalizada)

## 7. ANEXO

Tabla 1. Datos sobre humedad, temperatura del aire y del suelo tomados de la página web del gobierno de la Rioja, departamento de agricultura. Estación meteorológica de Casalareina.

Fechas			
	Hr %	T (celsius)	T suelo
25/08/2016	Med	Med	Med
26/08/2016	30	27,2	23,6
27/08/2016	45	25,1	24,3
28/08/2016	55	24,9	24,4
29/08/2016	66	23,2	24,6
30/08/2016	65	20,2	22,5
31/08/2016	58	21,7	23
01/09/2016	69	21	23,1
02/09/2016	63	23,4	24,1
03/09/2016	58	25,7	25
04/09/2016	57	25,3	25,1
05/09/2016	47	27,1	25,4
06/09/2016	44	25	24,8
07/09/2016	45	26,3	24,7
08/09/2016	54	24,8	24,6
09/09/2016	66	22	23,9
10/09/2016	68	20,6	23
11/09/2016	59	21,5	22,9
12/09/2016	55	22	23
13/09/2016	54	24,9	23,4
14/09/2016	69	20,7	22,2
15/09/2016	66	15	19,5
16/09/2016	66	15,5	19,3
17/09/2016	76	16,9	18,5
18/09/2016	73	15,6	17,5
19/09/2016	73	15,7	17,1
20/09/2016	71	15,7	17,3
21/09/2016	72	16,7	17,8
22/09/2016	73	16	17,6
23/09/2016	69	17,9	18,6
24/09/2016	69	20,2	19,9
25/09/2016	60	19,9	19,7
26/09/2016	65	19,1	19,7
27/09/2016	65	18,3	19,8
28/09/2016	67	18,3	19,1

29/09/2016	60	20,4	20,2
30/09/2016	57	18	19,4
01/10/2016	62	18,3	19,1
02/10/2016	70	19,1	20
03/10/2016	66	17,9	19,7
04/10/2016	70	18,5	19,2
05/10/2016	68	20,5	20,5
06/10/2016	71	17,2	19,5
07/10/2016	68	17,2	19,3
08/10/2016	68	13,8	17,8
09/10/2016	70	14,5	17,2
10/10/2016	64	13,8	16,7
11/10/2016	59	12,3	15,8
12/10/2016	58	11,9	15,1
13/10/2016	80	14	15,2
14/10/2016	93	14,1	15,7
15/10/2016	79	13,7	15,6
16/10/2016	78	12	14,2
17/10/2016	77	15	14,7
18/10/2016	85	15,7	15,7
19/10/2016	76	16,5	16,4
20/10/2016	75	12,4	14,9
21/10/2016	74	9,8	13
22/10/2016	69	9	11,9
23/10/2016	88	11,9	12,3
24/10/2016	78	16,9	14,8
25/10/2016	81	15,4	14,9
26/10/2016	90	16,4	15,4
27/10/2016	82	17	16,3
28/10/2016	71	14,5	15
29/10/2016	75	11	13,3
30/10/2016	82	10,9	12,8

**Tablas de seguimiento de la FOH, densidad y temperatura de los 4 depósitos.**

Tabla 2. Depósito: INOX 6 (CONTROL 1)

Fechas	Temperatura (°C)	densidad (g/L)
08-oct-16	16	1.101
10-oct-16	17	1.100
11-oct-16	14	1.099

11-oct-16	16	1.099
12-oct-16	18	1.097
12-oct-16	21	1.092
13-oct-16	22	1.084
13-oct-16	22	1.070
14-oct-16	23	1.065
14-oct-16	24	1.053
15-oct-16	25	1.048
15-oct-16	24	1.040
16-oct-16	25	1.033
16-oct-16	21	1.025
17-oct-16	22	1.022
18-oct-16	20	1.014
18-oct-16	20	1.013
19-oct-16	22	1.011
20-oct-16	20	1.008
21-oct-16	20	1.003
22-oct-16	21	998

Tabla 3. Depósito: INOX 7 (CONTROL 2)

Fechas	temperatura(°C)	densidad (g/L)
08-oct-16	16	1.102
09-oct-16	16	1.101
10-oct-16	14	1.101
11-oct-16	16	1.101
11-oct-16	16	1.100
12-oct-16	17	1.100
12-oct-16	19	1.100
13-oct-16	22	1.080
13-oct-16	25	1.080
14-oct-16	27	1.065
14-oct-16	27	1.060
15-oct-16	24	1.056
16-oct-16	21	1.034
17-oct-16	20	1.028
18-oct-16	21	1.020
19-oct-16	21	1.014
20-oct-16	21	1.007
21-oct-16	21	1.003
22-oct-16	21	1.000
23-oct-16	21	1.008
24-oct-16	20	998
25-oct-16	20	996

Tabla 4. Depósito: INOX 8 (SIN SO<sub>2</sub> 1)

Fechas	temperatura (°C)	densidad(g/L)
08-oct-16	17	1.104
09-oct-16	17	1.104
10-oct-16	15	1.104
11-oct-16	17	1.104
12-oct-16	17	1.103
13-oct-16	17	1.102
13-oct-16	18	1.100
14-oct-16	23	1.099
14-oct-16	23	1.088
15-oct-16	19	1.090
15-oct-16	20	1.086
16-oct-16	21	1.075
16-oct-16	25	1.072
17-oct-16	22	1.060
18-oct-16	23	1.079
19-oct-16	23	1.034
20-oct-16	23	1.022
21-oct-16	23	1.014
22-oct-16	26	1.005
23-oct-16	21	1.004
24-oct-16	21	1.002
25-oct-16	21	999
26-oct-16	22	996

Tabla 5. Depósito: INOX 9 (SIN SO<sub>2</sub> 2)

Fechas	temperatura( °C)	densidad (g/L)
08-oct-16	18	1.100
09-oct-16	18	1101
10-oct-16	18	1.101
11-oct-16	16	1.100
13-oct-16	20	1.082
14-oct-16	21	1.076
14-oct-16	21	1.062
15-oct-16	22	1.057
15-oct-16	22	1.045
16-oct-16	25	1.039
16-oct-16	23	1.028
17-oct-16	24	1.025
18-oct-16	21	1.016
19-oct-16	24	1.012
20-oct-16	24	1.007
21-oct-16	22	1.001
22-oct-16	22	999



## Tablas de los valores de población de levaduras y bacterias lácticas

### LEVADURAS

Tabla 6. Valores de población de levaduras al finalizar la FOH.

	Totales (levaduras/ml)	Vivas (levaduras/ml)	Muertas (levaduras/ml)
PROMEDIO T INOX 6	6,69E+05	4,93E+05	1,76E+05
DESVEST T INOX 6	8,78E+04	6,62E+04	4,14E+04
PROMEDIO T INOX 7	3,19E+05	2,22E+05	9,75E+04
DESVEST T INOX 7	4,59E+04	3,12E+04	1,98E+04
PROMEDIO T INOX 8	3,50E+05	2,44E+05	1,06E+05
DESVEST T INOX 8	3,12E+04	4,06E+04	2,09E+04
MEDIA TOTAL INOX 9	3,93E+05	2,71E+05	1,22E+05
DESVEST INOX 9	1,70E+04	2,09E+04	2,15E+04

Tabla 7. Valores de la población de levaduras al inicio de la FML.

		Totales (levaduras/ml)	Vivas (levaduras/ml)	Muertas (levaduras/ml)
BARRICA 1 INICIO FML	PROMEDIO	1,82E+05	6,06E+04	1,21E+05
	DESVEST	4,03E+04	1,94E+04	2,59E+04
BARRICA 2 INICIO FML	PROMEDIO	3,24E+05	1,53E+05	1,71E+05
	DESVEST	2,81E+04	3,49E+04	3,08E+04
BARRICA 3 INICIO FML	PROMEDIO	9,31E+04	3,63E+04	5,69E+04
	DESVEST	1,39E+04	9,91E+03	1,13E+04
BARRICA 4 INICIO FML	PROMEDIO	9,69E+04	4,00E+04	5,69E+04
	DESVEST	1,41E+04	1,10E+04	1,07E+04
BARRICA 5 INICIO FML	PROMEDIO	1,38E+05	5,31E+04	8,50E+04
	DESVEST	9,23E+03	1,07E+04	1,04E+04
BARRICA 6 INICIO FML	PROMEDIO	3,37E+05	1,14E+05	2,23E+05
	DESVEST	6,08E+04	1,89E+04	5,70E+04

Tabla 8. Valores de la población de levaduras en plena FML.

		Totales (levaduras/ml)	Vivas (levaduras/ml)	Muertas (levaduras/ml)
BARRICA 1 PLENA FML	PROMEDIO	2,51E+05	1,08E+05	1,43E+05
	DESVEST	5,00E+04	9,26E+03	4,48E+04
BARRICA 2 PLENA FML	PROMEDIO	2,17E+05	1,41E+05	7,63E+04
	DESVEST	2,22E+04	2,21E+04	1,73E+04
BARRICA 3 PLENA FML	PROMEDIO	1,24E+05	4,81E+04	7,56E+04
	DESVEST	1,13E+04	1,16E+04	1,18E+04
BARRICA 4 PLENA FML	PROMEDIO	5,19E+04	1,81E+04	3,38E+04
	DESVEST	1,46E+04	5,30E+03	1,16E+04
BARRICA 5 PLENA FML	PROMEDIO	3,56E+04	2,44E+04	1,13E+04
	DESVEST	6,23E+03	5,63E+03	3,54E+03
BARRICA 6 PLENA FML	PROMEDIO	1,46E+05	7,69E+04	6,88E+04
	DESVEST	1,86E+04	1,07E+04	1,03E+04

## BACTERIAS LÁCTICAS

Tabla 9. Valores de la población de bacterias lácticas al inicio de la FML.

		Totales (bacterias/ml)	Vivas (bacterias/ml)	Muertas (bacterias/ ml)
BARRICA 1 INICIO FML	PROMEDIO	1,13E+05	6,67E+04	4,67E+04
	DESVEST	2,93E+04	1,04E+04	1,89E+04
BARRICA 2 INICIO FML	PROMEDIO	5,50E+04	3,67E+04	1,83E+04
	DESVEST	2,00E+04	1,26E+04	7,64E+03
BARRICA 3 INICIO FML	PROMEDIO	6,17E+04	4,50E+04	1,67E+04
	DESVEST	5,77E+03	5,00E+03	2,89E+03
BARRICA 4 INICIO FML	PROMEDIO	4,50E+04	3,33E+04	1,17E+04
	DESVEST	1,32E+04	7,64E+03	7,64E+03
BARRICA 5 INICIO FML	PROMEDIO	5,83E+04	3,83E+04	2,00E+04
	DESVEST	1,76E+04	7,64E+03	1,00E+04
BARRICA 6 INICIO FML	PROMEDIO	4,00E+04	3,17E+04	8,33E+03
	DESVEST	1,32E+04	7,64E+03	7,64E+03

Tabla 10. Valores de la población de bacterias lácticas en plena FML.

		Totales (bacterias/ml)	Vivas (bacterias/ml)	Muertas (bacterias/ ml)
BARRICA 1 PLENA FML	PROMEDIO	9,50E+04	5,83E+04	3,67E+04
	DESVEST	1,80E+04	7,64E+03	1,04E+04
BARRICA 2 PLENA FML	PROMEDIO	7,67E+04	5,00E+04	2,67E+04
	DESVEST	7,64E+03	5,00E+03	2,89E+03
BARRICA 3 PLENA FML	PROMEDIO	9,17E+04	7,00E+04	2,17E+04
	DESVEST	1,53E+04	1,80E+04	2,89E+03
BARRICA 4 PLENA FML	PROMEDIO	6,17E+04	5,00E+04	1,17E+04
	DESVEST	1,26E+04	1,00E+04	2,89E+03
BARRICA 5 PLENA FML	PROMEDIO	6,00E+04	4,67E+04	1,33E+04
	DESVEST	1,32E+04	7,64E+03	5,77E+03
BARRICA 6 PLENA FML	PROMEDIO	7,67E+04	5,17E+04	2,50E+04
	DESVEST	2,25E+04	1,61E+04	8,66E+03

Tabla 11. Valores de la población de bacterias lácticas al final de la FML.

		Totales (bacterias/ml)	Vivas (bacterias/ml)	Muertas (bacterias/ ml)
BARRICA 1 FIN FML	PROMEDIO	4,67E+04	2,50E+04	2,17E+04
	DESVEST	1,04E+04	5,00E+03	5,77E+03
BARRICA 2 FIN FML	PROMEDIO	3,50E+04	2,17E+04	1,33E+04
	DESVEST	1,00E+04	2,89E+03	7,64E+03
BARRICA 3 FIN FML	PROMEDIO	3,67E+04	2,17E+04	1,50E+04
	DESVEST	1,15E+04	7,64E+03	5,00E+03
BARRICA 4 FIN FML	PROMEDIO	3,67E+04	2,33E+04	1,33E+04
	DESVEST	7,64E+03	5,77E+03	2,89E+03
BARRICA 5 FIN FML	PROMEDIO	2,83E+04	1,83E+04	1,00E+04
	DESVEST	7,64E+03	5,77E+03	5,00E+03
BARRICA 6 FIN FML	PROMEDIO	4,17E+04	2,33E+04	1,83E+04
	DESVEST	7,64E+03	2,89E+03	5,77E+03

Tabla 12. Valores de SO<sub>2</sub> de depósitos y barricas

	Sulfuroso libre (mg/L)	PROMEDIO SO2	DESVEST SO2
Botella 1 inox 6 fin FOH	14	13	1,41E+00
Botella 2 inox 7 fin FOH	12		
Botella 3 inox 8 fin FOH	11	10,5	7,07E-01
Botella 4 inox 9 fin FOH	10		
Botella 5 coupage barricas 1 y 2 con	12	11	1,41E+00
Botella 6 barrica 3 con	10		
Botella 7 coupage barricas 4 y 5 sin	6	5,5	7,07E-01
Botella 8 coupage barrica 6	5		

Tabla 13. Valores de tonalidad en depósitos y barricas

	TONALIDAD (abs 420/abs 520)	PROMEDIO TONALIDAD	DESVEST SO2
Botella 1 inox 6 fin FOH	0,513	0,514	1,41E-03
Botella 2 inox 7 fin FOH	0,515		
Botella 3 inox 8 fin FOH	0,559	0,567	1,13E-02
Botella 4 inox 9 fin FOH	0,575		
Botella 5 coupage barricas 1 y 2 con	0,587	0,5875	7,07E-04
Botella 6 barrica 3 con	0,588		
Botella 7 coupage barricas 4 y 5 sin	0,638	0,64	2,83E-03
Botella 8 coupage barrica 6	0,642		